



Esta obra está bajo una [Licencia  
Creative Commons Atribución-  
NoComercial-CompartirIgual 2.5 Perú](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/).

Vea una copia de esta licencia en  
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN – TARAPOTO**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**



**“EFECTO DE CONSORCIOS DE HONGOS MICORRÍZICOS  
ARBUSCULARES NATIVOS, SOBRE LA DINÁMICA  
POBLACIONAL DEL NEMÁTODO DEL NUDO (*Meloidogyne  
incognita*) EN PLANTONES DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis  
L.*).”**

**Tesis para optar el título profesional de:  
INGENIERO AGRÓNOMO**

**Autor:**

**Bach. Hernan Mozombite Satalaya**

**Asesor:**

**Ing. Eybis José Flores García**

**Co-Asesor:**

**Ing. M.Sc. Mike Anderson Corazón Guivin**

**Tarapoto – Perú  
2017**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN – TARAPOTO**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**

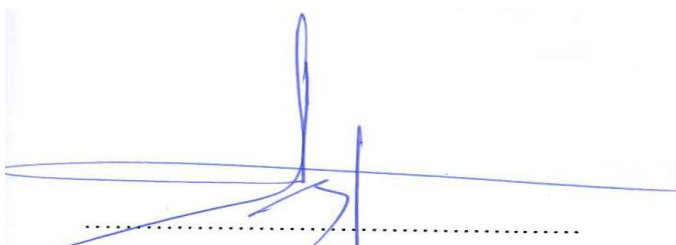
**“EFECTO DE CONSORCIOS DE HONGOS MICORRÍZICOS  
ARBUSCULARES NATIVOS, SOBRE LA DINÁMICA  
POBLACIONAL DEL NEMÁTODO DEL NUDO (*Meloidogyne  
incognita*) EN PLANTONES DE SACHA INCHI (*Plukenetia  
volubilis* L.).”**

**Tesis para optar el título profesional de:  
INGENIERO AGRÓNOMO**

**Autor:**

**Bach. Hernan Mozombite Satalaya**


**Sustentado y aprobado ante el honorable jurado el 27 de diciembre del  
2017**




Dr. Agustín Cerna Mendoza  
**Presidente**



Ing. MSc. Patricia Elena García Gonzáles  
**Secretario**



Ing. María Emilia Ruíz Sánchez  
**Vocal**



Ing. Eybis José Flores García  
**Asesor**

## Declaración de Autenticidad

Yo, HERNAN MOZOMBITE SATALAYA, egresado(a) de la Facultad de CIENCIAS AGRARIAS de la Escuela Profesional de AGRONOMÍA, de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, identificado con DNI N° 70545445, Domiciliado en: Jr. La Unión N° 365 – San José de Sisa, con la tesis titulada: “EFECTO DE CONSORCIOS DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NATIVOS, SOBRE LA DINÁMICA POBLACIONAL DEL NEMÁTODO DEL NUDO (*Meloidogyne incognita*) EN PLANTONES DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.)”.

Declaro bajo juramento que:

1. La tesis presentada es de mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

De considerar que el trabajo cuenta con una falta grave, como el hecho de contar con datos fraudulentos, demostrar indicios y plagio (al no citar la información con sus autores), plagio (al presentar información de otros trabajos como propios), falsificación (al presentar la información e ideas de otras personas de forma falsa), entre otros, asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiénndose a la normatividad vigente de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto.

Tarapoto, 27 de Diciembre del 2017

  
HERNAN MOZOMBITE SATALAYA  
DNI N° 70545445





**Formato de autorización NO EXCLUSIVA para la publicación de trabajos de investigación, conducentes a optar grados académicos y títulos profesionales en el Repositorio Digital de Tesis**

**1. Datos del autor:**

Apellidos y nombres: <u>Mozombite Satalaya Hernan</u>	
Código de alumno : <u>121111</u>	Teléfono: <u>991829300</u>
Correo electrónico : <u>hermoz2710@gmail.com</u>	DNI: <u>70545445</u>

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

**2. Datos Académicos**

Facultad de: <u>Ciencias Agrarias</u>
Escuela Profesional de: <u>Agronomía</u>

**3. Tipo de trabajo de investigación**

Tesis	( <u>x</u> )	Trabajo de investigación	( )
Trabajo de suficiencia profesional	( )		

**4. Datos de trabajo de investigación**

Título: <u>"EFECTO DE CONSORCIOS DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NATIVOS, SOBRE LA DINÁMICA POBLACIONAL DEL NEMATODO DEL NUDO (Meloidogyne incognita) EN PLANTONES DE SACHA INCHI (Plukenetia volubilis L.)"</u>
Año de publicación: <u>2017</u>

**5. Tipo de Acceso al documento**

Acceso público *	( <u>x</u> )	Embargo	( )
Acceso restringido **	( )		

Si el autor elige el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, una licencia **No Exclusiva**, para publicar, conservar y sin modificar su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en el Repositorio de Tesis Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indiquen el sustento correspondiente:


**6. Originalidad del archivo digital**

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, como parte del proceso conducente a obtener el Título Profesional o Grado Académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el jurado.

## 7. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

Para investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica.

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

El autor por medio de este documento, autoriza a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Digital de Tesis, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el Inciso 12.2, del Artículo 12° del Reglamento Nacional de Trabajos de Investigaciones para optar Grados Académicos y Títulos Profesionales –RENATI “Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA”.

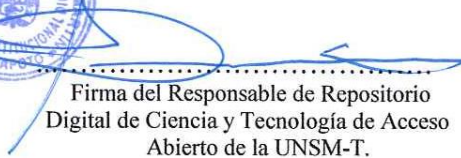
  
.....  
Firma del Autor

## 8. Para ser llenado en la Oficina de Repositorio Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM-T.

Fecha de recepción del documento:

10 / 08 / 2018



  
Firma del Responsable de Repositorio  
Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso  
Abierto de la UNSM-T.

\***Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

\*\***Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.

## **DEDICATORIA**

A mis queridos padres Hernan Mozombite y Eugenia Satalaya por el apoyo incondicional y la confianza brindado todo este tiempo, así mismo a mis hermanos que con sus enseñanzas me forjaron de valores y fuerzas cumplir mis metas del cual me siento muy orgulloso.

A mis amigos, docentes y conocidos para todos aquellos que formaron parte de mi formación, brindándome sus enseñanzas y su apoyo moral.

A los miembros Laboratorio de Biología y Genética Molecular- FCA- UNSM-T por la confianza que me brindaron y dejarme ser parte de esta gran familia y sus enseñanzas que me ayudarán a encajar y ser de éxito para la sociedad.

Autor: Bach. Hernan Mozombite Satalaya

# ÍNDICE

**Pag.**

<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>2</b>
Objetivo general .....	2
Objetivos específicos.....	2
<b>CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>3</b>
1.1. Bases teóricas.....	3
1.1.1. Consorcios de Hongos Micorrízicos Arbusculares. (Géneros y especies reportadas).....	3
1.1.2. Micorrizas.....	4
1.1.3. Tipos de Micorrizas.....	4
1.1.4. Hongos Micorrízicos arbusculares (HMA) .....	5
1.1.5. Colonización de los HMA.....	6
1.1.6. Estructuras de los HMA .....	8
1.1.7. Factores abióticos relacionados a la simbiosis de los HMA .....	10
1.1.8. Ventajas y beneficios de la colonización de HMA .....	12
1.1.9. Ciclo de vida de las micorrizas .....	13
1.1.10. Mecanismo de acción .....	14
1.1.11. Influencia de las micorrizas arbusculares en la absorción de fósforo .....	15
1.1.12. Riqueza de especies y diversidad de HMA .....	16
1.1.13. Estudios sobre diversidad de HMA.....	16
1.2. Cultivo de sachá inchi ( <i>Plukenetia volubilis</i> L.).....	17
1.2.1. Antecedentes del cultivo .....	17
1.2.2. Características generales .....	18
1.2.3. Principales problemas fitosanitarios de <i>Plukenetia volubilis</i> .....	18
1.2.4. Interacción de CHMA con <i>Plukenetia volubilis</i> .....	19
1.3. <i>Meloidogyne incognita</i> .....	20



1.3.1. Importancia.....	20
1.3.2. Morfología.....	20
1.3.3. Sintomatología .....	21
1.3.4. Ciclo de vida.....	21
1.3.5. Mecanismo de acción .....	22
<b>CAPÍTULO II: METODOLOGÍA .....</b>	<b>25</b>
2.2. Metodología del proyecto de investigación .....	25
2.2.1. Tipo de método de la investigación.....	25
2.2.2. Diseño de investigación .....	25
2.2.3. Recolección y selección de fuente inóculo de CHMA.....	25
2.2.4. Descripción de los tratamientos en estudio (Gráfico 1) .....	27
2.2.3. Población.....	29
2.2.4. Muestra.....	29
2.2.5. Sistema de hipótesis .....	29
2.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	29
2.3.1. Área de estudio.....	29
2.3.2. Ubicación del ensayo .....	30
2.3.3. Fases de instalación del proyecto. ....	31
2.4. Variables evaluadas .....	41
2.4.1. Variables morfológicas .....	41
2.4.2. Variables biológicas .....	44
<b>CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>	<b>49</b>
3.1. Variables morfológicas .....	49
3.1.1. Altura de plántulas de sachá inchi.....	49
3.1.2. Número de hojas de plántulas de sachá inchi.....	51
3.1.3. Contenido de clorofila de plántulas de sachá inchi .....	53
3.1.4. Área foliar de plántulas de sachá inchi.....	56

3.1.5. Peso fresco de la biomasa de plántulas de sachá inchi.....	58
3.1.6. Peso seco de parte aérea de plántulas de sachá inchi .....	60
3.2. Variables biológicas.....	63
3.2.1. Población de <i>M. incognita</i> en suelo y raíces de sachá inchi .....	63
3.2.2. Grado de infestación de <i>M. incognita</i> en raíces de sachá inchi.....	66
3.2.3. Determinación de la longitud de micelio extraradical en suelo de macetas de sachá inchi.....	68
3.2.4. Determinación de porcentaje de colonización micorrízica en raíces de plántulas de sachá inchi .....	71
3.2.5. Densidad de esporas finales en el suelo de macetas de sachá inchi .....	73
3.3. Variables ecológicas .....	76
3.3.1. Identificación de especies de HMA de la fuente inóculo de cada localidad. ....	76
las localidades estudiadas.....	76
3.3.2. Especies de HMA de la fuente inóculo de cada localidad. ....	77
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>80</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>81</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>82</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pag.</b>
<b>Figura 1:</b> Diagrama del ciclo de vida de los HMA durante el establecimiento de la simbiosis funcional (Giovannetti, 2000, citado en Guachón <i>et al.</i> , 2012)... 14	14
<b>Figura 2:</b> Ciclo de la enfermedad del nudo de la raíz causada por nematodos del género <i>Meloidogyne</i> (Agrios, 2005). .... 23	23
<b>Figura 3:</b> Localización de área de colecta de CHMA y <i>Meloidogyne incognita</i> . .... 30	30
<b>Figura 4:</b> <b>A:</b> Vivero de instalación del proyecto de tesis; <b>B:</b> Laboratorio de biología y Genética Molecular ..... 31	31
<b>Figura 5:</b> <b>A:</b> Plantas de sachá inchi; <b>B:</b> Semilla de sachá inchi recolectada. .... 32	32
<b>Figura 6:</b> Autoclavado de tierra agrícola y arena para la preparación del sustrato. .... 32	32
<b>Figura 7.</b> Macetas de plástico (3Kg) conteniendo sustrato (Tierra agrícola + arena gruesa de río; 2:1) ..... 35	35
<b>Figura 8.</b> <b>A:</b> Inoculantes de HMA; <b>B:</b> Mezcla de la fuente de inóculo con sustrato; <b>C:</b> Homogenización del sustrato con el inóculo ..... 36	36
<b>Figura 9.</b> <b>A:</b> siembra de semilla de sachá inchi; <b>B:</b> Distribución de los tratamientos (macetas). .... 37	37
<b>Figura 10.</b> <b>A:</b> Plantas de tomate infestados con <i>Meloidogyne incognita</i> ; <b>B:</b> Separación de la raíz del suelo; <b>C:</b> Lavado de la raíz; <b>D:</b> Mezclado de la raíz con Hipoclorito de sodio al 1%; <b>E:</b> Mallas con huevos de <i>Meloidogyne incognita</i> ; <b>F:</b> Huevos de <i>Meloidogyne incognita</i> observadas en microscopio a un aumento de 10X ..... 38	38
<b>Figura 11.</b> <b>A:</b> Homogenización de la alícuota con <i>Meloidogyne incognita</i> ; <b>B:</b> Apertura del hoyo; <b>C:</b> Pipeteado de <i>Meloidogyne incognita</i> ; <b>D:</b> Inoculación; <b>E:</b> Macetas con plantones de sachá inchi infestados con <i>Meloidogyne incognita</i> . .... 39	39
<b>Figura 12.</b> <b>A:</b> Solución nutritiva; <b>B:</b> Vertido de la solución; <b>C:</b> Aplicación de la solución nutritiva en plantones de sachá inchi. .... 41	41
<b>Figura 13.</b> Medición de altura de planta. .... 41	41

<b>Figura 14.</b> A: Equipo “Medidor de clorofila”; B: Medición de clorofila en hojas de plantas de sachá inchi ( <i>Plukenetia volubilis</i> L.).....	42
<b>Figura 15.</b> Pesado de biomasa fresca (hojas, Tallo y raíces) de una plántula de sachá inchi.....	43
<b>Figura 16.</b> Pesado parte aérea de plantones de sachá inchi. ....	43
<b>Figura 17. A:</b> Extracción de nemátodos de raíces (Rojas & Salazar, 2013); <b>B:</b> Extracción de nemátodos de muestras de suelo. ....	44
<b>Figura 18.</b> Escala de evaluación del grado de infestación propuesto por Brige y Page (1980). ....	45
<b>Figura 19. A:</b> Observación en estereoscopio para la evaluación de MER; <b>B, C y D:</b> Muestras de Micelio Extraradical (MER) observados en estereoscopio a un aumento de 5X. ....	46
<b>Figura 20.</b> Escala gradual de intensidad de colonización, según Trouvelot <i>et al.</i> , 1986), citado en Gañán <i>et al.</i> , 2011). ....	47
<b>Figura 21. A:</b> Evaluación de muestras en el microscopio; <b>B:</b> Raíz colonizada observando micelio extraradical e intraradical observada a 10X; <b>C:</b> Raíz colonizada mostrando vesículas observadas en microscopio a 10X; <b>D:</b> Vesícula observadas a 40X; <b>E:</b> Vesícula observadas a 40X; <b>F:</b> Arbusculos observados en microscopio a un aumento de 100X. ....	47
<b>Figura 22.</b> Consorcio de Hongos Micorrízicos Arbusculares (CHMA) .....	48
<b>Figura 23. A:</b> Esporas agrupadas por morfotipo; <b>B:</b> Esporas montadas con PVLG Y PVLG MELZER .....	48

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pag.</b>
<b>Tabla 1:</b> Tratamientos en estudio .....	27
<b>Tabla 2:</b> Aplicación de nutrientes .....	40
<b>Tabla 3:</b> ANVA de altura de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.....	49
<b>Tabla 4:</b> ANVA del número de hojas de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.....	51
<b>Tabla 5:</b> ANVA del contenido de clorofila en plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero. ....	54
<b>Tabla 6:</b> ANVA del área foliar en plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.....	56
<b>Tabla 7:</b> ANVA del peso fresco de biomasa en plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero. ....	58
<b>Tabla 8:</b> ANVA del peso seco de parte aérea de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero. ....	61
<b>Tabla 9:</b> ANVA de la población de <i>M. incognita</i> en suelo y raíces de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.....	63
<b>Tabla 10:</b> ANVA del grado de infestación de <i>M. incognita</i> en raíces de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.....	66
<b>Tabla 11:</b> ANVA de determinación de la longitud de micelio extraradical en suelo de macetas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.....	68
<b>Tabla 12:</b> ANVA de determinación de porcentaje de colonización micorrízica en raíces de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero	71
<b>Tabla 13:</b> Relación de especies de HMA encontradas en las fuentes de inóculo de las localidades estudiadas .....	76



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	<b>Pag.</b>
<b>Gráfico 1:</b> Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) para altura de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a T° media de 28°C y HR de 75%. ....	49
<b>Gráfico 2:</b> Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) del número de hojas de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a una T° media de 28°C y HR de 75%. ....	52
<b>Gráfico 3:</b> Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) del contenido de clorofila de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a una T° media de 28°C y HR de 75%. ....	54
<b>Gráfico 4:</b> Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) del área foliar de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a una T° media de 28°C y HR de 75%. ....	56
<b>Gráfico 5:</b> Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) del peso fresco de biomasa de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a una T° media de 28°C y HR de 75%. ....	59
<b>Gráfico 6:</b> Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) del peso seco de parte aérea de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a una T° media de 28°C y HR de 75%. ....	61
<b>Gráfico 7:</b> Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) de la población de <i>M. incognita</i> en suelo y raíces de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a una T° media de 28°C y HR de 75%. ....	64
<b>Gráfico 8:</b> Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) del grado de infestación causado por <i>M. incognita</i> en raíces de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a una T° media de 28°C y HR de 75%. ....	66
<b>Gráfico 9:</b> Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) de determinación de la longitud de micelio extraradical en suelo de macetas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a una T° media de 28°C y HR de 75%. ....	69
<b>Gráfico 10:</b> Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) de determinación de porcentaje de colonización micorrízica en raíces de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a una T° media de 28°C y HR de 75%. ....	71

**Gráfico 11:** Prueba de Tukey ( $p<0,05$ ) de densidad de esporas finales en el suelo de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a una T° media de 28°C y HR de 75%..... 74

## LISTA DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

**CHMA:** Consorcio de Hongos Micorrízicos Arbusculares

**HMA:** Hongos Micorrízicos Arbusculares

**DDS:** Días Después de la Siembra

**J2:** Juveniles estadio dos

**MER:** Micelio Extraradical

**CHMA-N:** Consorcio de Hongos Micorrízicos Arbusculares y nemátodos

**HMA-N:** Hongos Micorrízicos Arbusculares y nemátodos

**sp.** Varias especies del género

**spp.** Una especie del género

**KOH:** Hidróxido de Potasio

**LBGM:** Laboratorio de Biología y Genética Molecular

**SARM:** San Antonio de Rio Mayo

**NP:** Nuevo Progreso

**Pal:** Palmiche

**Hua:** Huañipo

**SC:** Santa Cruz

**FCA:** Facultad de Ciencias Agrarias

**UNSM-T:** Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto

## RESUMEN

Los Consorcios de Hongos Micorrízicos Arbusculares (CHMA) proporcionan a través de la red de hifas y micelios absorción de agua, nutrientes, y protección a cambio de los productos fotosintéticos. En este sentido el objetivo del proyecto fue determinar el efecto de CHMA nativos, sobre la dinámica poblacional del nemátodo del nudo (*Meloidogyne incognita*) en plántones de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). Para la instalación del proyecto previamente fueron recolectados CHMA de parcelas de sachá inchi de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche, Nuevo Progreso, Huañipo y Santa Cruz pertenecientes a la Región San Martín, multiplicados en plantas trampa de maíz, sorgo y alfalfa; simultáneamente se extrajeron muestras de raíces con agallas para definir la especie, éstos fueron propagados en plántulas de tomate. Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con 3 repeticiones, cada uno con siete unidades experimentales, en total de 378 plántulas divididas en 18 tratamientos, incluyendo un tratamiento testigo absoluto; la temperatura media dentro del vivero fue de 28°C y Humedad Relativa de 75%, las plántulas fueron extraídas y evaluadas a los 105 días en condiciones de vivero; el sustrato utilizado fue a base de tierra agrícola y arena (2:1) en macetas de 3kg; se inoculó 2000 esporas de cada localidad por maceta y 3000 *M. incognita* en estadio juvenil 2. Las variables evaluadas fueron altura de planta, número de hojas, área foliar, grado de infestación, peso fresco, peso seco, porcentaje de colonización y longitud de micelio extraradical; los tratamientos con CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz, mostraron resultados sobresalientes con respecto al efecto bioprotector contra *Meloidogyne incognita* en plántulas de sachá inchi, por que los tratamientos inoculados con CHMA nativos presentan colonización micorrízica en diferentes niveles, siendo los consorcios provenientes de las localidades de Palmiche (T13), San Antonio de Rio Mayo (T11) y Santa Cruz (T15) los que presentan mayor porcentaje de colonización con 72,5%, 71,5% y 70,7% siendo iguales estadísticamente, seguido de San Antonio (T12) con 56% y Huañipo (T14) con 57,2% éstos datos corresponden a los tratamientos que fueron inoculados con CHMA en el momento de la siembra y *Meloidogyne incognita* a los 60 días después de la siembra de sachá inchi, El proyecto de investigación se desarrolló gracias al financiamiento de CONCYTEC a través de CIENCIACTIVA.

Palabras claves: Consorcio de Hongos Micorrízicos Arbusculares (CHMA), *Plukenetia volubilis*, *Meloidogyne incognita*.

## ABSTRACT

The Consortium of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (CHMA) provides, through the network of hyphae and mycelia, absorption of water, nutrients, and protection in exchange for photosynthetic products. In this sense, the objective of the project was to determine the effect of native CHMA on the population dynamics of the knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) saplings. For the installation of the project, CHMA was previously collected from sacha inchi plots of San Antonio de Rio Mayo, Palmiche, Nuevo Progreso, Huañipo and Santa Cruz towns belonging to the San Martín Region, multiplied in corn, sorghum and alfalfa trap plants. At the same time root samples were extracted with gills to define the species, these were propagated in tomato seedlings. A Completely Randomized Design (DCA) was used with 3 replications, each with 7 experimental units, a total of 378 seedlings divided into 18 treatments, including an absolute control treatment; the average temperature inside the nursery was 28°C and Relative Humidity of 75%, the seedlings were extracted and evaluated at 105 days under nursery conditions; the substrate used was based on agricultural soil and sand (2: 1) in 3kg pots; 2000 spores of each locality / pot were inoculated and 3000 *M. incognita* in mobile juvenile stage (J2). The evaluated variables were plant height, number of leaves, foliar area, degree of infestation, fresh weight, dry weight, percentage of colonization and length of extraradical mycelium; The treatments with CHMA from the San Antonio de Rio Mayo, Palmiche and Santa Cruz localities showed outstanding results regarding the bioprotective effect against *Meloidogyne incognita* in sachi inchi seedlings. The results showed that the treatments inoculated with native CHMA present mycorrhizal colonization at different levels, being the consortiums from the localities of Palmiche (T13), San Antonio de Rio Mayo (T11) and Santa Cruz (T15) those that present a higher percentage of colonization with 72.5%, 71.5% and 70.7%, being statistically equal, followed by San Antonio (T12) with 56% and Huañipo (T14) with 57.2% these data correspond to the treatments that were inoculated with CHMA at the time of sowing and *Meloidogyne incognita* 60 days after the planting of sacha inchi, the research project was developed thanks to financing from CONCYTEC through CIENCIACTIVA.

Key words: Consortium of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (CHMA), *Plukenetia volubilis*, *Meloidogyne incognita*.





## INTRODUCCIÓN

Los consorcios de hongos micorrízicos arbusculares (CHMA) cumplen una función importante en la nutrición de las plantas, Debido a que las redes de micelio intra y extrarradical que desarrollan al colonizar sistemas radiculares de las plantas hospederas, posibilitan una mayor absorción de nutrientes del suelo; promoviendo un crecimiento rápido y desarrollo vigoroso (Schouted, 2015). En la región San Martín, existe una gran diversidad de cultivos agrícolas que desarrollan mutualismo con CHMA, entre ellos destaca el sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.), una especie nativa que actualmente ha adquirido gran importancia debido a que sus semillas contienen altas concentraciones de ácidos grasos esenciales tipo Omega 3, 6 y 9 (Hamaker *et al.*, 1992). Estos atributos sumados a su alta demanda de sus semillas, han promovido el interés de muchos agricultores por este cultivo, incrementando sus áreas sembradas; lamentablemente, su producción se ha visto disminuida con bajos rendimientos como consecuencia del principal problema fitosanitario como es el caso del nemátodo del nudo (*Meloidogyne incognita*), que causan nódulos y agallas en el sistema radicular llevando en ocasiones a la mortandad de la planta, por ende, disminución de la producción.

En este sentido el proyecto de investigación tiene por finalidad conocer el efecto de CHMA nativos sobre la dinámica poblacional del nemátodo del nudo (*Meloidogyne incognita*) en plantones de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.).” teniendo en cuenta dos tiempos de inoculación con *M. incognita* utilizando 5 fuentes de CHMA nativos; los datos obtenidos servirá para socializar con los productores de sachá inchi como una alternativa para disminuir el daño que causan al cultivo, este proyecto se desarrolló en el vivero perteneciente al Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM) de la Facultad de Ciencias Agrarias - Universidad Nacional de San Martín-T”, financiado por CONCYTEC, dentro del marco del proyecto “control del nemátodo del nudo (*Meloidogyne* spp.) en el cultivo de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) mediante el uso de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en San Martín” con convenio: N° 187 – 2015.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

- Determinar el efecto de consorcios de hongos micorrízicos arbusculares nativos sobre la dinámica poblacional del nemátodo del nudo (*Meloidogyne incognita*) en plantones de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.).

### Objetivos específicos

- Evaluar el grado de infestación de nemátodos y el porcentaje de colonización de CHMA nativos en el sistema radicular de plantones de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) e inoculados con *Meloidogyne incognita* en diferentes tiempos.
- Evaluar la sintomatología de plantones de *Plukenetia volubilis* inoculadas con CHMA e inoculados con *Meloidogyne incognita* en diferentes tiempos.
- Identificar especies de CHMA nativos inoculados en plantones de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.).

# **CAPITULO I**

## **MARCO TEÓRICO**

### **1.1. Bases teóricas**

#### **1.1.1. Consorcios de Hongos Micorrízicos Arbusculares. (Géneros y especies reportadas)**

Según Morton y Benny, (1990), mencionan que durante muchos años los hongos formadores de micorrizas arbusculares se ubicaron en el orden Endogonales junto al género no micorrízico *Endogone*, sin embargo, la luz de las consideraciones filogenéticas, se estableció que su condición simbiótica constituía criterios suficientes para agruparlos en un taxón particular, lo cual dio origen al orden Glomales y a un rearrreglo de familias, clasificaron a los hongos micorrízicos en la división Eumycota, clase Zygomycetes, orden Glomales, suborden Glominaeae y Gigasporaceae con las siguientes familias y sus géneros respectivos: Glomaceae (*Glomus*, *Sclerocystis*), Acaulosporaceae (*Acaulospora* y *Entrophospora*), Gigasporaceae (*Gigaspora* y *Scutellospora*), Archaeosporaceae (*Archaeospora*), Paraglomaceae (*Paraglomus*).

A nivel de géneros, la taxonomía de estos hongos se fundamenta en características tales como formación y morfología de las esporas, modo de germinación y morfología del esporocarpo, otros caracteres como apariencia de las esporas (color, contenido, grosor de la pared, ornamentación y tipo de conexión entre las hifas), murografías (diagramas que ilustran la estructura de la pared de la espora y anatomía de la infección del hongo), se usan para la taxonomía a niveles de especies (Schenck y Pérez, 1990).

De otro lado, los caracteres morfológicos son a veces difíciles de distinguir, lo cual hace complicado el manejo de claves, por demás complejas, la morfología de algunas esporas micorrizicas es muy similar, por lo que en ocasiones puede ser muy difícil distinguir una especie de otra (Azcon, 2000).

Dos nuevos ancestros de hongos formadores de micorrizas arbusculares fueron descubiertos a partir de la secuencia de ADN ribosomal, son dos nuevas familias: Archaeosporaceae, la cual contiene dos géneros con tres especies formadoras de

esporas semejantes al género *Acaulospora*, se encontró que dos de las especies son dimorfitas; y la familia *Paraglomaceae*, la cual contiene el género *Paraglomus* con dos especies formadoras de esporas diferentes a las del género *Glomus*, ambas especies fueron identificadas desde medios de cultivos con suelos y fragmentos de raíces de hierbas y secuenciales cultivos de sorgo, éstas especies son formadoras de arbuscúlos en medios de cultivos con trigo (Morton y Redecker, 2001).

#### 1.1.2. Micorrizas

El término micorriza fue propuesto por primera vez en 1885, por Albert Bernard Frank, quien descubrió la asociación regular de tejidos fungosos, con el tejido radical de los árboles (Sánchez, 1999); los descubrimientos fósiles, en los que se han encontrado micorrizas conocidos como “fósiles endomicorizales”, hacen pensar que este tipo de asociaciones han podido ser cruciales para permitir la colonización terrestre de las plantas y que su existencia data de hace mucho tiempo atrás (Sempere y Santamarina 2001).

Se conoce con el nombre de micorriza a la asociación mutualista establecida entre las raíces de la mayoría de las plantas (tanto cultivadas como silvestres), y ciertos hongos del suelo. Es una relación beneficiosa para los dos organismos implicados, el hongo coloniza la raíz sin causar daño a la planta y le proporciona nutrientes minerales y agua que extrae del suelo por medio de su red externa de hifas, particularmente fósforo, mientras que la planta suministra al hongo sustratos energéticos y carbohidratos que elabora a través de la fotosíntesis. Se trata de una simbiosis universal, no sólo porque casi todas las especies vegetales son susceptibles de ser micorrizadas, sino también porque puede estar presente en la mayoría de los hábitats naturales (Hernández 2003; Molina *et al.*, 2005).

#### 1.1.3. Tipos de Micorrizas

Existe una gran diversidad en la morfología y fisiología de las asociaciones micorrízicas, de acuerdo con Rivera *et al.* (2003), existen tres tipos de asociaciones micorrízicas vigentes, considerando sus características morfo-anatómicas y ultraestructurales ectomicorizas, ectendomicorizas y

endomycorrizas. En las ectomycorrizas el hongo se desarrolla en los espacios intercelulares de la corteza radical, no penetran dentro de las células, sino que forman la llamada red de Hartig. Penetran la endodermis de la raíz y se aprecian la típica capa o manto de hifas que tejen alrededor de las raíces que colonizan. Pérez (2001) menciona que esta asociación se da en aproximadamente el 3% de las especies vegetales. En las ectendomycorrizas ocurren penetraciones intracelulares y desarrollo de manto típicos de especies como el madroño y la guayaba (Pérez, 2001). Por otro lado, Rivera *et al.*, (2003) mencionan que las ectendomycorrizas presentan características intermedias comunes a las ecto y endomycorrizas, y se encuentran restringidas a un pequeño grupo de especies vegetales y fúngicas. Por último, las endomycorrizas no son detectadas visiblemente, forman una red externa de hifas menos profusa que la anterior. Se propagan a través de las raíces y penetran al interior de las células corticales sin llegar a colonizar la endodermis. Este grupo es el más difundido en las plantas y está dividido en varios subtipos, de los cuales el más representativo e importante es el arbuscular, cuyos protagonistas fúngicos pertenecen al Phylum Glomeromycota (Schüssler *et al.*, 2001).

#### 1.1.4. Hongos Micorrízicos arbusculares (HMA)

Los posibles determinantes de la eficiencia simbiótica están relacionados con el tipo de hongo micorrízico (tasa de crecimiento, translocación de nutrientes y metabolismo del P en el micelio externo, capacidad infectiva, tasa de crecimiento del endófito arbuscular y la producción de arbusculos en el micelio interno), con la planta hospedera (morfología de la raíz, tasa de crecimiento de las raíces, requerimientos nutricionales de las plantas, tasa fotosintética y tolerancia a las situaciones de estrés) y la interfase simbiótica (área de contacto entre los simbioses, tasa de toma de nutrientes y tasa de eflujo de carbohidratos), (Sieverding, 1991). La aplicación constante de dosis crecientes de fósforo inorgánico disminuye la colonización micorrízica, y las plantas inoculadas presentan un mejor crecimiento y desarrollo que aquellas que son fertilizadas. Con el uso de los hongos micorrízicos puede sustituirse la adición de fertilizante durante la fase vivero, lo cual resulta en un beneficio para la economía de los que trabajan con viveros, además de que la planta al salir a campo cuenta con un



sistema biológico que le permite una mejor adaptación en el nuevo hábitat (Trejo, 1997).

Siqueira, y Oliveira (1995), en su investigación encontró que la inoculación con HMA de plantas de café influyen positivamente en su crecimiento en vivero y en la sobrevivencia y tolerancia al estrés al momento del trasplante, inocular los HMA a las plantas en su estado vegetativo es el mejor momento para establecer la simbiosis, porque habrá un mejor aprovechamiento de nutrientes, un ahorro en fertilizantes químicos y una manera de asegurar el mayor número de plantas vigorosas para el trasplante a campo definitivo. Alarcón y Cerrato, (1999). Jiménez (1989), encontró que en viveros de café donde se inocularon varias especies de hongos, se registró un mayor crecimiento de plantas, como es en el caso de ensayos realizados con *Gigaspora margarita* en los que se obtuvieron crecimientos superiores a 200% con relación a las plantas no inoculadas. Mientras tanto Trejo *et al.*, (2011) encontró en condiciones controladas de invernadero, que los consorcios micorrízicos arbusculares incrementaron la altura de plantas de cafeto en 91% con respecto a plantas no inoculadas y a plantas fertilizadas con fósforo.

#### 1.1.5. Colonización de los HMA

Existen varias etapas en el proceso de colonización de la micorriza a una raíz de una planta: **A.** Primera etapa: Se produce la diferenciación de la espora, propagación del hongo e identificación mutua entre la planta y el hongo, y viceversa, en la rizósfera, o en regiones próximas a las raíces o pelos radicales. Este reconocimiento lo facilitan al parecer, sustancias exudadas o emitidas por la raíz, que provocan el crecimiento del micelio y un biotropismo positivo del mismo hacia la raíz. **B.** Segunda etapa: Consiste en el acercamiento y acoplamiento progresivo y gradual del micelio a la raicilla, produciéndose el contacto intercelular, al formarse una estructura que adhiere a ambos especímenes. **C.** Tercera etapa: Se realiza la colonización, produciéndose cambios morfológicos y estructurales tanto en los tejidos colonizados por el hongo, como en la organización de la pared celular de la raíz. Posteriormente se produce la integración fisiológica de ambos simbios (hongo-raíz), y por

último se produce una alteración de las actividades enzimáticas, que se coordinan entre los simbioses para integrar sus procesos metabólicos, (Franco, 2008).

Este proceso de asociación para formar micorrizas, provoca alteraciones morfológicas y anatómicas en las plantas colonizadas tales como: cambios en la relación tallo raíz, en la estructura de los tejidos radicales, en el número de cloroplastos, aumento de la lignificación, alteración de los balances hormonales, etc. Efectos que no son sólo explicables, como una simple mejora nutritiva de la planta, debido al aumento de eficacia en la absorción de nutrientes por la raíz, gracias a la formación de la micorriza, sino que, responde a cambios metabólicos más profundos y complejos, debidos a la integración fisiológica de los simbioses. (Franco, 2008).

Una de las respuestas simbióticas de la planta con el hongo, es destinar fotosintatos en forma de sacarosa, para que el hongo pueda nutrirse heterotróficamente y para que pueda sintetizar azúcares propios tales como manitol, trehalosa, glicógeno. Aunque las asociaciones de micorrizas se consideran en general no específicas, es decir, que cualquier hongo simbiote puede colonizar cualquier planta receptiva; existen, sin embargo, algunas preferencias o una mejor afinidad compatible entre determinadas parejas hongo – planta, (Harley, 1971).

Luego de haberse formado la micorriza, el hongo empieza a colonizar el interior de su hospedante formando hifas intraradicales, arbuscúlos y vesículas; existen varios métodos que ayudan a determinar el porcentaje de colonización de los HMA, siendo uno de ellos el método de Trouvelot *et al.*, (1986), que es la densidad visual de la ocupación de las estructuras del hongo en la raíz del macrosimbionte (Grace y Stribley, 1991). Sin embargo, el porcentaje de la colonización por HMA en las raíces del hospedante no determina la efectividad de los mismos. (McGonigle, 1990), A pesar de que el porcentaje de colonización no representa la efectividad de la simbiosis entre los HMA y las plantas, su

determinación permite conocer y cuantificar visualmente las estructuras de los HMA que se forman a nivel intraradical (Grace y Stribley, 1991).

#### 1.1.6. Estructuras de los HMA

##### **A. Esporas**

Las esporas son la forma de conservación de los HMA en la naturaleza, y aunque el ciclo de vida de los HMA se puede iniciar de otros propágulos como redes de micelio y fragmentos de raíces colonizadas (Ordoñez, 2009), las esporas son más resistentes a las condiciones medioambientales y pueden entrar en latencia, mediante el engrosamiento de su pared, si éstas son desfavorables (Giovannetti y Gianiniazzi-Pearson, 1994; citado por Tena, 2002). Estas esporas o clamidosporas son células reproductoras producidas asexualmente, que pueden estar individualmente en el suelo, en el interior de las raíces de la planta hospedera, o formando densas masas no estructuradas conocidas como esporocarpos.

En su mayoría, son de forma globosa (esférica) pero algunas especies tienen esporas ovaladas u oblongas; de ellas se desprende una hifa de sustentación que en conjunto dan la apariencia de un globo con su hilo colgando. Las esporas son de diferentes colores: blancas, amarillas, pardas, etc. y su tamaño puede variar de 20 a 50  $\mu\text{m}$ , y en las más grandes de 200 a 1000  $\mu\text{m}$  (Brundrett, Bougher, Dell, Grove y Malajczuk, 1996). Son multinucleadas, contienen gotas de lípidos y otros contenidos los cuales varían en color y al romperse la espora en una lámina porta objetos se observa su arreglo en gotas pequeñas o grandes, lo cual puede ser una ayuda en la identificación del hongo. Las paredes de las esporas están formadas por una o más láminas, que varían en grosor, estructura, apariencia y tinción a reactivos, características que también ayudan al taxónomo a identificar la especie (Reyes, 2011).

##### **B. Micelio extrarradical de los HMA**

De las esporas emerge un filamento denominado hifa, y al conjunto de ellas se le conoce con el nombre de micelio, mediante el cual el hongo coloniza a su planta hospedadora.

ante el establecimiento de la simbiosis, el hongo coloniza la corteza de la raíz, y también desarrolla un extenso micelio externo que simula un sistema radical complementario y altamente efectivo, ayuda a la planta a adquirir nutrientes minerales y agua del suelo. A su vez, la planta hospedadora le proporciona al hongo fuentes de carbono procedentes de la fotosíntesis y un nicho ecológico protegido (Smith & Read, 2008).

El micelio externo incluye micelio y esporas (Smith y Read, 2008). Inicialmente se producen hifas relativamente gruesas denominadas hifas exploradoras, que crecen de forma apical. Estas hifas sufren ramificaciones (hifas secundarias) que a su vez vuelven a ramificarse. Las hifas exploradoras son las responsables del avance del micelio y la extensión de la colonia fúngica. Este micelio externo funciona como un sistema radical complementario que se extiende más allá de la zona de agotamiento de nutrientes cercana a la raíz (Bucher, 2006). Su función es la búsqueda, absorción y transporte de nutrientes para la planta, especialmente aquellos de lenta difusión en la solución del suelo como son el fósforo, zinc, cobre y amonio. Es así que la determinación de la eficiencia o efectividad está asociada al micelio extraradical, cantidad de raíz colonizada (Hernández *et al.*, 2008), y ésta se define como la capacidad de influir favorablemente en la adecuación de una especie vegetal con los que los HMA están asociados, en comparación con otras que crecen en ausencia de ellos. (Herrera y Ferrer, 1984).

La simbiosis representa un alto costo para la planta, entre el 4% y el 20% del carbono fijado a través de la fotosíntesis es consumido por el hongo (Parniske, 2008; Wright, *et al.*, 1998). Sin embargo, las hifas del hongo son mucho más finas que las raíces y para la planta podría ser desgastante producir más raíces que establecer una simbiosis que le aporte beneficios nutricionales (Helgason y Fitter, 2009).

El carbono tomado de la planta, es usado para la producción de estructuras: esporas e hifas, dicho carbono, es absorbido en forma de hexosas por los arbuscúlos intraradicales y son convertidos a lípidos y glicógeno que luego son exportados al micelio externo el cual no tiene la capacidad de absorber carbono del suelo (Smith & Read, 2008). Estos cambios originados por la simbiosis, evidencian su eficiencia en incrementos del área de exploración radical de las plantas y en la consiguiente

absorción de nutrimentos, considerando que éstas se encuentren en una misma condición de disponibilidad de los mismos, de tal manera que presenten mayores o menores coeficientes de aprovechamiento y crecimiento, dependiendo de los consorcios micorrízicos inoculados (Barea, *et al.*, 1991).

### **C. Arbúsculos**

Los arbúsculos son hifas modificadas y se consideran la estructura central de la simbiosis micorrízica arbuscular, pues juegan un papel crucial en las principales funciones de la interacción, el mejoramiento de la nutrición de la planta y el biocontrol de patógenos del suelo (Franken, *et.al*, 2007). Normalmente los arbúsculos tienen un tiempo de vida corto, de 4 a 10 días, después de los cuales se degeneran y son digeridos por la célula hospedadora que vuelve a recuperar su apariencia y su función normal, los estudios histoquímicos han mostrado al arbúsculo como un órgano especializado, capaz de una gran actividad metabólica y muy bien adaptado para el intercambio de nutrientes entre el hongo y la planta (Giovanneti y Gianinazzi-Pearson, 1994) (Citados por Tena 2002).

### **D. Vesículas**

Al mismo tiempo, o poco después de que se formen los arbúsculos, algunas especies de hongos micorrízicos arbusculares forman vesículas intra y/o intercelulares. Las vesículas, son estructuras de forma diversa según la especie (redondeadas, ovoides, etc.) y de paredes finas que se producen por el hinchamiento terminal de las hifas. Estas estructuras almacenan gran cantidad de lípidos y actúan como órgano de reserva del hongo en situaciones de estrés, como es la falta de carbohidratos (Smith y Read, 2008).

#### **1.1.7. Factores abióticos relacionados a la simbiosis de los HMA**

De acuerdo con Oliveira y Oliveira (2005), la precipitación tiene un efecto positivo sobre la densidad de esporas, pero no en el porcentaje de colonización. Además, estos autores observaron que el contenido de humedad en el suelo tiene un efecto positivo sobre el número de esporas y en la colonización por HMA.



Por otro lado, Panwar y Tarafdar (2006 a, b) reportan que el pH del suelo afecta positivamente la densidad de esporas, pero el contenido de fósforo aprovechable tiene un efecto negativo sobre éstas. También observaron una relación positiva entre el porcentaje de colonización y el contenido de carbono orgánico. Los efectos de los HMA en plantas son dependientes de la planta hospedera y las condiciones ambientales (Smith y Read, 1997; Newsham, y Watkinson, 1995). Entre los factores condicionantes se pueden mencionar los siguientes:

**A. Luz:** Al aumentar la intensidad luminosa el aumento de micorrizas es proporcional al número de raíces secundarias y terciarias posiblemente por un aumento en la disponibilidad de nutrientes, principalmente carbohidratos libres en las raíces.

**B. Temperatura:** La temperatura tiene una acción directa sobre el porcentaje de crecimiento radical y sobre la producción de nuevas raíces. La temperatura óptima para el crecimiento de las micorrizas varía entre 17 y 27°C.

**C. Agua y Aireación:** Las formaciones micorrízicas están influenciadas por la humedad del suelo y por la aireación. Se presume que el crecimiento del micelio decrece a una baja concentración de oxígeno debido a que la mayoría de estos hongos micorrízicos son aeróbicos. En efecto, la formación micorrízica se inhibe en suelos arcillosos debido a la dificultad de las raíces para penetrar en este, así como también por una pobre aireación.

**D. pH:** Con relación a este parámetro se ha encontrado que altos valores de micorrización (50% a 84%) están asociados a bajos valores de pH (3,5 a 4,2). Así mismo a nivel general se reportan niveles de tolerancia de distintos géneros a valores de pH entre 3 y 9, argumentan que las micorrizas arbusculares tienen amplia adaptación a condiciones de pH (éstas se han encontrado en suelos con pH desde 2,7 a 9,2). Se han encontrado diferentes especies y ecotipos en cuanto a su capacidad para colonizar un hospedero en función del pH (Peña *et al.*, 2006).

#### 1.1.8. Ventajas y beneficios de la colonización de HMA

Según Rojas (2010), indica que, las ventajas de la aplicación de micorrizas en un sistema agroecológico son: 1. Mayor crecimiento y desarrollo de las plantas en beneficio de la adaptación y eficiencia de éstas al facilitar una mayor absorción de nutrientes minerales del suelo; 2. Mejora el reciclado de nutrientes en el suelo; 3. Aumenta la eficiencia de otros microorganismos que tienden a asociarse con ellas, tales como *Rizhobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, que a su vez incrementan la captación de nutrientes para las plantas; 4. Mejora el control de enfermedades y por ende se facilita la disminución en gasto de insecticidas y funguicidas; 5. Produce plantas más resistentes al ataque de patógenos; 6. Facilitan la adaptación a suelos salinos; 7. Contribuyen con la disminución de la erosión (Molina, Mahecha y Medina, 2005); 8. Se incrementan la tasa fotosintética, potencial osmótico, conductancia estomática, reproducción y la transpiración (Smith y Read 1997; Augé 2001); 9. Se incrementa la biomasa seca aérea y radicular (Abbott y Robson, 1991; Sieverding, 1991; Jasper y Davy, 1993). Ortas (1996), menciona que ello se debe a la distribución de los nutrientes a los tallos, los mismos que aumentan el consumo de fotosintatos en la parte aérea que se expresa en el aumento de biomasa.

En cuanto al crecimiento y desarrollo de la planta Koch, *et al.*, (1997), nos indican que la inoculación de HMA en plantas hace que la tasa de fotosíntesis se eleve notablemente en comparación con plantas no inoculadas, y puede atribuirse el incremento en el crecimiento de las plantas micorrizadas a dicho aumento de la actividad fotosintética; la micorrización temprana del material vegetal confiere un beneficio inicial a las plantas micorrizadas en cuanto a supervivencia al trasplante y establecimiento en plantación (Camprubí y Estaún, 2000).

Los efectos beneficiosos de la introducción de inóculo micorrízico resultan más evidentes en suelos donde las poblaciones de hongos MA nativos no existen, o han sido eliminadas por empleo de prácticas agrícolas desfavorables para su desarrollo como la fumigación del suelo y el cultivo intensivo (Sieverding, 1991 citado por Hernández, 2000). Otros autores como Smith y Read, 1997, citados

por Dávila *et al.*, (2009), afirman que la presencia de HMA en las raíces del hospedante con respecto a los incrementos de su tasa de crecimiento y producción de biomasa, tienen efectos mayores en suelos de baja fertilidad o desequilibrados nutricionalmente, especialmente cuando el contenido de fósforo asimilable es bajo.

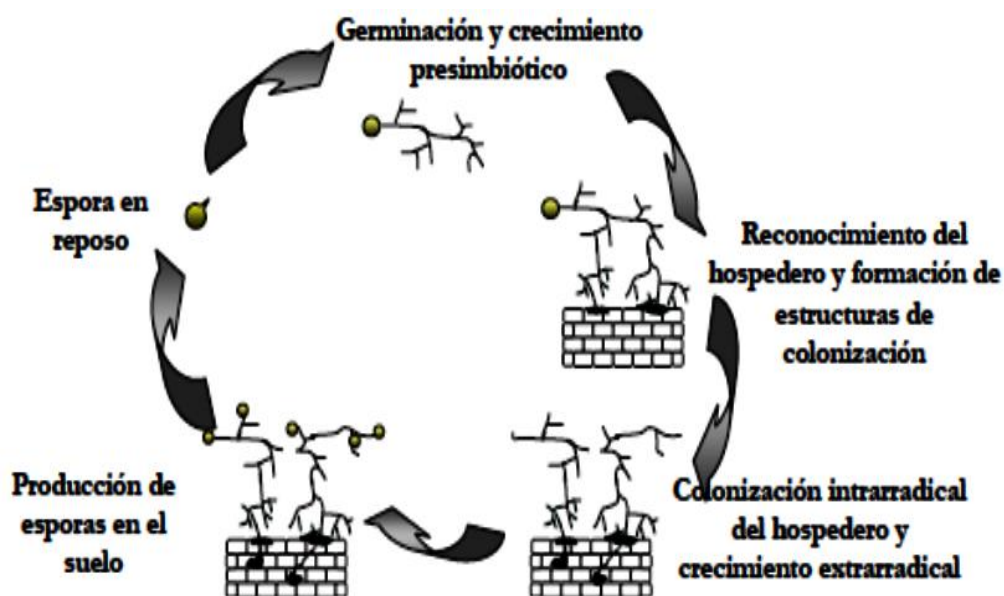
Los efectos benéficos de las micorrizas son ampliamente conocidos e incluyen mejoras en la nutrición mineral e incrementos en la capacidad para superar los estrés bióticos y abióticos a través de una red de señales (M. Fujita, Y. Fujita, Noutoshi, Takahashi, Narusaka, Yamaguchi y Shinozaki, 2006), entre las vías de señales que se establecen, el sinergismo y antagonismo proveen un potencial regulatorio que permiten la inducción de mecanismos de defensa (Pozo y Azcón-Aguilar, 2007).

Según Sylvia y Williams (1992), los HMA son altamente adaptables a diferentes ambientes, sin embargo; Hart y Reader (2002), al trabajar con inoculaciones multiespóricas (esporas provenientes de varias especies de HMA), menciona que se puede encontrar diferencias en el comportamiento de sus respectivas colonizaciones y Barea (1991) hace referencia también al grado de especificidad entre los organismos simbióticos al que se le ha denominado compatibilidad.

#### 1.1.9. Ciclo de vida de las micorrizas

Según León 2006, los HMA son simbioses biotróficos obligados con un ciclo de vida dividido en dos etapas distintas. Por un lado, los estadios de reposo y reproductivo (esporas, esporocarpos, arbuscúlos y posiblemente también vesículas), son independientes de la planta. Por otra parte, los estadios vegetativos están involucrados en interacciones complejas con las plantas entre las cuales se incluyen el reconocimiento, la colonización y el intercambio de nutrientes. Estas etapas son representadas por el desarrollo de hifas externas en el suelo e hifas espirales, arbuscúlos y vesículas dentro de la raíz. Es así que en la zona externa del córtex de la raíz forma unas estructuras intracelulares típicas que son los “ovillos”; en la zona media las hifas crecen normalmente de forma longitudinal en los espacios intercelulares; mientras que en la zona interna las

hifas penetran intercelularmente y forman los arbuscúlos de los cuales se produce el intercambio de nutrientes.



**Figura 1:** Diagrama del ciclo de vida de los HMA durante el establecimiento de la simbiosis funcional (Giovannetti, 2000, citado en Guachón *et al.*, 2012).

También habría que destacar la formación de vesículas en el córtex cuya función es el almacenamiento de reservas lipídicas. Tras la colonización interna se produce la ramificación y desarrollo del micelio externo que es la clave en la captación de nutrientes y da lugar a nuevos puntos de colonización en la propia raíz o en otras próximas. Sobre la red tridimensional de hifas que constituye se forman las esporas, estructuras de resistencia que, al madurar completan el ciclo del hongo.

#### 1.1.10. Mecanismo de acción

Estas formas simbióticas se inician con la activación del micelio del hongo procedente de la germinación de las esporas, dando comienzo a la formación de la micorriza, lo que genera los propágulos para lograr en forma natural perpetuar y propagar la especie, cuando las esporas germinan, desarrollan unos filamentos conocidos como hifas, que por proliferación dan lugar al micelio del hongo que

se extiende en el suelo según su potencial saprofítico; el micelio es el encargado de llevar a cabo la infección de la raíz, que se produce por una identificación mutua, en primera instancia, entre la planta y el hongo en la rizósfera en regiones próximas a las raíces; este reconocimiento es mediado por sustancias exudadas por la raíz, que provocan el crecimiento del micelio y un biotropismo positivo del mismo hacia la raíz, luego se produce el contacto intercelular al formarse una estructura llamada apresorio; posteriormente se producen cambios morfológicos y estructurales, tanto en los tejidos colonizados por el hongo, como en la organización de la pared celular del simbionte fúngico, el proceso continúa con la integración fisiológica de ambos simbiontes, y por último, se presenta una alteración de las actividades enzimáticas, para integrar los procesos metabólicos (Miyasaka y Habte, 2003; Barea, 2003).

Debemos considerar que la colonización por HMA de las raíces, no conllevan daño alguno para éstas, los desarrollos de las hifas externas se ramifican y distribuyen en el suelo, el micelio externo tiene la función de ser participe en la adquisición de nutrientes y agua para las plantas, también beneficios dan a las plantas una mayor capacidad de tolerancia a los ambientes extremos, en la actualidad es muy bien conocido que están presentes en todos los biomas y ecosistemas Read, 2008).

#### 1.1.11. Influencia de las micorrizas arbusculares en la absorción de fósforo

Uno de los nutrimentos que más se ha estudiado en relación con su absorción mediada por micorrizas arbusculares, es el fósforo, debido a que las plantas lo requieren en relativamente grandes cantidades, pero que también se encuentra en concentraciones muy bajas en la solución del suelo. La razón principal para este fenómeno, es que los iones de fosfato inorgánico se unen rápidamente a coloides del suelo o se fijan como sales de fierro o aluminio volviéndose relativamente inmóviles además de que una gran proporción del fósforo inorgánico total está normalmente en forma insoluble, no disponible fácilmente para las plantas. La asociación simbiótica planta-hongo se ve afectada por una elevada concentración de P en el sustrato, este efecto se produce debido a que un incremento de fósforo endurece la pared celular, dificultando la colonización

micorrízica (Herrera, 2001, citado en Paillacho, 2010) presentándose una correlación inversamente proporcional entre el porcentaje de colonización y la absorción de fósforo, es decir, a medida que se disminuye la concentración de P disponible en el sustrato, el porcentaje de colonización se incrementa (Cuadros, Gómez y Rodríguez, 2011). Así mismo la concentración de entre 40-70 ppm de P asimilable para un suelo franco es considerada alta. De igual manera, se señala que concentraciones de entre 351-500 ppm de K asimilables son consideradas altas y porcentajes mayores a 2,5% de materia orgánica son muy altos (Paillacho, 2010).

#### 1.1.12. Riqueza de especies y diversidad de HMA

La diversidad de hongos es considerada una de las más abundantes dentro de los grupos de organismos que forman los seres vivos (Johansson *et al.*, 2004). La contribución de los hongos micorrízicos a la diversidad de los ecosistemas ha recibido muy poca atención a pesar de su amplia distribución (Rivera *et al.*, 2003) y del conocido papel que juegan en su funcionamiento (van der Heijden *et al.*, 1998).

La diversidad HMA tiene consecuencias ecológicas significativas porque las especies individuales y/o los consorcios micorrízicos tienen diferente potencial para promover el crecimiento vegetal y la adaptación a factores bióticos y abióticos adversos (Jeffries *et al.*, 2003; Sanders, 2003). Así, la composición y dinámica poblacional tienen un impacto marcado sobre la estructura, diversidad y productividad de las comunidades vegetales con las que se asocian tanto en ecosistemas naturales como agrícolas (van der Heijden *et al.*, 1998; Dandan y Zhiwei, 2007).

#### 1.1.13. Estudios sobre diversidad de HMA

Lugo y Cabello (2002) y Azcón-Aguilar *et al.* (2003), encontraron mayor diversidad de hongos en primavera y verano, y ésta varió dependiendo de la planta hospedera y de su tipo de metabolismo. Aunado a esto, Chaurasia *et al.* (2005), encontraron un total de 16 morfotipos de los cuales 8 se identificaron a

nivel de especie; el género más abundante fue *Glomus*, seguido de *Gigaspora* y *Scutellospora*.

También se ha observado que la diversidad y frecuencia de las especies de HMA varía espacialmente (Oliveira y Oliveira 2005; Chaurasia et al., 2005). Lugo y Cabello (2002), Azcón-Aguilar *et al.* (2003) y Oliveira y Oliveira (2005), reportaron una diversidad de especies de HMA que se agrupan principalmente en cinco géneros, siendo *Glomus* el más frecuente y abundante.

## 1.2. Cultivo de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.)

### 1.2.1. Antecedentes del cultivo

El género *Plukenetia* comprende 17 especies de distribución pantropical, 12 en América, 03 en África, 01 en Madagascar y 01 en Asia (Gillespie, 1993).

*Plukenetia volubilis*, es una euphorbiaceae que comúnmente se conoce como maní del monte, sacha maní o maní del inca, está distribuida desde América Central y en el Perú se le encuentra en estado silvestre en diversos lugares (San Martín, Ucayali, Huánuco, Amazonas, Madre de Dios y Loreto), en San Martín se encuentra en toda la cuenca del Huallaga, en la provincia de Lamas, en el Valle de Sisa, en Alto Mayo y Bajo Mayo, crece desde los 100 hasta los 2 000 m.s.n.m; es una planta que se adapta a suelos arcillosos y ácidos y se desarrolla mejor en climas cálidos, se siembra con tutores vivos al contorno de los cerros (laderas), para proteger a los suelos de la erosión indiscriminada, situación en la que se encuentran la mayoría de los suelos de la Región San Martín. (Manco, 2006).

Su producción se inicia a los 6,5 meses del trasplante, obteniéndose en el primer año rendimientos promedios de 0,7 a 2,0 t/ha, se desarrolla en asociación y con cultivos de cobertura, alcanzando edades hasta de 10 años (Valles, 1995).

DRASAM (2016), realizó un estudio catastral resultando que existe un claro potencial en la región para la siembra de sachá inchi de aproximadamente 220 000 Ha, las mismas que están distribuidas en las diferentes provincias como Lamas, San Martín, El Dorado, Bellavista y Picota. En la actualidad, según datos del proyecto Sachá inchi en San Martín, existen alrededor de 252.8 Ha en producción; y 503.17 has sembradas. A pesar de que el rendimiento promedio de semilla es de 1 TM/Ha, de acuerdo con INIA en Tarapoto, los rendimientos promedios reales, en plantaciones en el tercer año de producción, fluctúan entre 1.5 y 3TM/Ha. Esta variación se da por diversas razones, principalmente: mantenimiento y manejo del cultivo, la población de plantas por hectárea, la disponibilidad de agua y control de los problemas fitosanitarios (*Meloidogyne* spp.).

#### 1.2.2. Características generales

Según informes de Arévalo (2005), menciona que el tallo es trepador, voluble, semileñoso perenne y de altura indeterminada; las hojas son alternas de forma acorazonada de 10 a 12 cm de largo y de 8 a 10 cm de ancho, elípticas serradas y con pecíolos de 2 a 6 cm de largo, sus nervaduras nacen en la base y la nervadura central orientándose al ápice; las flores son axilares, estaminadas, hermafroditas y monoicas; las flores masculinas son pequeñas, blanquecinas y dispuestas en racimos con uno o más flores pistiladas en la base del racimo y lateralmente se encuentra una sola flor femenina; otros indican hasta dos a tres flores femeninas. Los frutos son capsulas dehiscentes y generalmente formado por cuatro capsulas; algunos ecotipos presentan hasta cinco a siete cápsulas; las Semillas son marrones de forma ovaladas, de 1.5 a 2 cm de diámetro; ligeramente abultadas en el centro y aplastadas hacia los bordes, al abrir las semillas se encuentran los cotiledones a manera de almendras cubiertas de una película blanquecina.

#### 1.2.3. Principales problemas fitosanitarios de *Plukenetia volubilis*

La investigadora Manco (2006), manifiesta que el INIA mantiene la colección más importante de sachá inchi, en donde se concentra una amplia variabilidad ecotipos (47 entradas), habiéndose identificado materiales genéticos promisorios



por sus altos contenidos de aceite; sin embargo, tienen bajos rendimientos y son altamente susceptibles a *Meloidogyne* sp. “nemátodo del nudo de la raíz”, principal problema fitosanitario, que ocasiona elevada mortandad de plantas al segundo año de producción, y en plantas adultas asociados a daños por *Meloidogyne* sp.

La importancia de este cultivo, es necesario realizar las investigaciones en manejo agronómico, mejoramiento genético, manejo integrado de plagas y enfermedades y agroindustria, a fin de seleccionar los materiales genéticos que presenten tolerancia a *Meloidogyne* spp., con buenos rendimientos y altos contenidos de aceites, de manera que se puedan obtener variedades con las que se puedan competir en la industria de aceites en el mercado nacional e internacional (Hamaker *et al.*, 1992).

Tomando en consideración su composición en ácidos grasos y la evidencia existente, es esperable que la mayor efectividad clínica de *Plukenetia volubilis* se asocie con su capacidad para mejorar los perfiles lipídicos y disminuir el riesgo cardiovascular, aunque hay experiencias que sugieren que podría también ser efectivo en tratamientos preventivos y curativos de enfermedades de la piel, lo que demuestra la amplia variedad de aplicaciones posibles. (Márquez *et al.*, 2007).

#### 1.2.4. Interacción de CHMA con *Plukenetia volubilis*

El efecto benéfico de los HMA, en la promoción del crecimiento y/o nutrición de las plantas parece estar definido por la riqueza de especies y por la procedencia de su aislamiento (Van der Heijden *et al.*, 1998; Klironomos *et al.*, 2000), por ejemplo, se ha demostrado que la inoculación en parcelas de *Plukenetia volubilis*, favorece significativamente el crecimiento de las plantas en comparación con cepas de HMA de diferente origen (Chávez y Cerrato 1996; Álvarez y Cerrato 2006).

### 1.3. *Meloidogyne incognita*.

#### 1.3.1. Importancia

Es considerado el nemátodo de mayor importancia en el mundo debido a las grandes pérdidas que puede ocasionar al afectar las raíces de numerosos hospedantes con que cuenta (Hortalizas, Frutales, Leguminosas; etc.), éste nemátodo produce nódulos en las raíces, atrofiándolas e interfiriendo con su buen funcionamiento, en la parte aérea se puede apreciar amarillamiento, marchitez y crecimiento retardado (Torres, 2003).

Los nematodos parásitos de plantas son plagas cosmopolitas con una amplia gama de huéspedes, causando pérdidas de cultivos anuales más de \$ 100 mil millones mundiales (Bird *et al.* 2008). El nematodo nudo de la raíz es sedentario, *Meloidogyne* spp., son particularmente perjudiciales. mayoría de los cultivos son atacados por al menos una especie de nematodos nudo de la raíz y su amplia gama de huéspedes es sólo comparable a la de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA), ya que incluye la mayoría de todas las plantas con flores (Trudgill y Blok 2001)

#### 1.3.2. Morfología

El investigador Volcy (1998), afirma que *Meloidogyne* hembra de cuerpo esférico, ovoide o de saco que no se transforma en quiste, cutícula delgada o gruesa, transparente y sin capa subcristalina el estilete mide de 13 a 16 micras de largo y poro excretor anterior al metacarpus. Dos ovarios enrollados dirigidos hacia delante, vulva terminal muy cerca al ano, a veces sobre una pequeña protuberancia, huevos depositados en matrigelatinosa el segundo estado juvenil vermiforme con cabeza cónica no contrastada y poco esclerotizada, estilete corto y delgado, glándula esofageal con traslape ventral, cola puntuda. Macho de tamaño largo, armadura cefálica desarrollada, estilete fuerte, esófago poco diferenciado o degenerado, cola redondeada, espícula casi terminal y sin bursa. Número básico de cromosomas  $n = 18$ , es cosmopolita y polífago.

La longitud promedio de las hembras adultas de las especies de *Meloidogyne* fluctúa alrededor de 0.44 a 1.3 mm y el ancho promedio fluctúa entre 0.325 a 0.7 mm.; las

hembras de la mayoría de las especies tienen cuerpos simétricos; es decir, hay una línea (supuesta) que va de la vulva al estilete, atravesando la mitad del cuerpo, muchas ilustraciones en las descripciones originales de *M. ottersoni*, *M. spartinae*, *M. acronea*, *M. graminis* y *M. megriensis* presentan hembras que tienen cuerpos de forma general, el cuerpo de la hembra no es simétrico; es decir, el cuello no está ni cerca ni en el centro de la línea central del cuerpo, sino distintivamente a un lado, de modo que las líneas centrales del cuello y el cuerpo forman un ángulo de por lo menos 15° a más de 90° en algunos especímenes (Taylor y Sasser, 1983).

### 1.3.3. Sintomatología

Las plantas infestadas por *Meloidogyne incognita*., muestran síntomas en los órganos aéreos similares a los producidos por enfermedades radiculares, disminuyendo el volumen de agua disponible para la planta; mostrando un desarrollo deficiente, menor cantidad de hojas, hojas pequeñas, amarillamiento, marchitamientos; los frutos y las inflorescencias se atrofian reduciendo la producción (Agrios, 1995; Talavera, 2003), la infección de las raíces produce engrosamientos característicos o agallas que pueden ser de varios tamaños dependiendo del número de hembras que albergue (Talavera, 2003).

Si la planta es un huésped adecuado, no evolucionan las células cercanas a la cabeza del parásito, hasta lo que, normalmente, hubieran sido xilema, floema y otros elementos de un cilindro central. Bajo la influencia del estímulo que provoca la secreción que inyectan por medio del estilete, se forman las llamadas “células gigantes”, hablando estrictamente, éstas no son células sino masas de protoplasma, más o menos desnudas, de las que se alimentan los nemátodos, la formación de las células gigantes (Hiperplasia), por estímulo (Christie, 1974).

### 1.3.4. Ciclo de vida

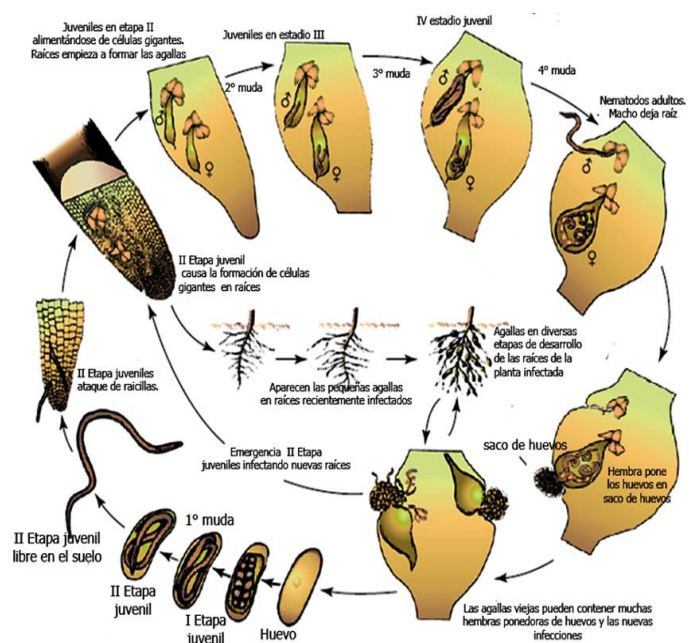
El ciclo de vida de todas las especies de *Meloidogyne* es esencialmente el mismo, sin embargo, algunos autores indican que el tipo de hospedero y condiciones ambientales como luminosidad, temperatura, altitud, pH, textura del suelo, etc., hacen que varíe el ciclo de vida de estos nemátodos (Sánchez, 2010).

La duración del ciclo de vida de *Meloidogyne* spp., es de 3 a 4 semanas en hospederas susceptibles presentes en suelos ligeros con temperaturas que oscilan entre los 25 y 30°C, y pueden presentarse 3 a 10 generaciones por año. Su ciclo biológico inicia con el huevo, posteriormente pasa por cuatro estados larvales para convertirse en adulto. El huevo es depositado por una hembra parcial o totalmente incrustada en la raíz de la planta hospedera, en una masa gelatinosa que los mantiene agregados en esta o en sacos, en los que han encontrado hasta mil huevos en una misma masa; el desarrollo del huevo inicia pocas horas después de la ovoposición hasta que se desarrolle una larva, la cual presenta un estilete enrollado en la membrana del huevo. La primera muda tiene lugar en el huevo; el segundo estadio (J2) es donde la larva emerge a través de un agujero hecho por medio de pinchazos repetidos con el estilete, generalmente se encuentra varias larvas emergidas en la masa de huevos junto con huevos en varios estados de desarrollo. Cuando se desprenden dos cutículas se considera que se ha completado la segunda y tercera muda en la hembra, en esta fase el estilete y el bulbo esofágico medio desaparecen. Poco después de la cuarta muda el estilete y el bulbo medio son regenerados, se forma la vagina y el patrón perineal se hace visible. Se forman dos gónadas femeninas, que se alargan y se doblan en el cuerpo, casi globular o ligeramente alargado con un cuello que puede ser corto y robusto. Los machos son escasos, alongados y vermiformes con la cola redondeada, generalmente presentan una gónada, una espícula y un gubernáculum muy notorios, este estado sexual no es útil en general para la identificación, no se les encuentra asociados con la hembra y en general su ciclo de vida es muy corto, eclosionan cuando están completamente desarrollados y estos no se alimentan (Sánchez, 2010).

#### 1.3.5. Mecanismo de acción

Los *Meloidogyne* ciclo de vida comprende una fase de suelo móvil, como móviles de segunda etapa ejemplares jóvenes de salen de los huevos en el suelo y penetra raíces huésped cerca de la punta de la raíz (Curtis *et al.* 2009). Una vez dentro, los nemátodos migran en el cilindro vascular, se convierten en sedentario e iniciar un sitio de alimentación que consiste en cinco a siete células gigantes multinucleadas (Abad *et al.* 2009). Los Nemátodos serán cada vez más hinchada mientras se somete a tres mudas adicionales. Hiperplasia e hipertrofia de las células que

rodean el sitio de alimentación conducen a la formación del síntoma más típico, las agallas radicales, que afectan seriamente el nutriente de las plantas y la absorción de agua. Las células gigantes sirven como única fuente de alimento y, por consiguiente, su creación y mantenimiento es esencial para el desarrollo vital de nematodo en la etapa de reproducción (Caillaud *et al.* 2008).



**Figura 2:** Ciclo de la enfermedad del nudo de la raíz causada por nematodos del género *Meloidogyne* (Agrios, 2005).

La reducción de la penetración de nematodos puede tener varias causas y podría, por ejemplo, el resultado de un efecto HMA. Con el fin de penetrar en una raíz, los nematodos primero tienen que ser capaces de orientarse hacia un sitio de acogida y la infección adecuado, por el que se basan en la exudación de la raíz (Curtis *et al.* 2009).

La etapa de vida del nematodo de *M. incognita*, que, por lo general tarda de 20 a 30 días para completar en promedio, dependiendo de las condiciones ambientales (Ploeg y Maris 1999). Una vez que los juveniles de segundo estadio han penetrado las raíces, el desarrollo de la etapa de la vida *Meloidogyne* especie comprende tres mudas adicionales antes de llegar a la etapa de la vida adulta. Se tarda aproximadamente 14 días antes de juveniles de segunda etapa mudan en juveniles

tercera etapa, mientras que los juveniles cuarta etapa por lo general emergen rápidamente, y esta fase dura típicamente sólo 4 a 6 días (Moens *et al.* 2009).

## **CAPITULO II**

### **METODOLOGÍA**

#### **2.2. Metodología del proyecto de investigación**

##### **2.2.1. Tipo de método de la investigación**

El proyecto de investigación pertenece a un tipo Descriptiva – Explicativo ya que se pretende describir y explicar el efecto de Consorcios de Hongos Micorrízicos Arbusculares (CHMA), sobre la dinámica poblacional del nemátodo del nudo (*Meloidogyne incognita*) en plántones de sachá (*Plukenetia volubilis* L.), es decir, cuanto puede influenciar los CHMA sobre el crecimiento y vigor de plántones de *Plukenetia volubilis*, y que efecto produce ante el ataque de nemátodos considerado principal problema de éste cultivo.

##### **2.2.2. Diseño estadístico**

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar DCA El experimento tuvo 17 tratamientos con 3 repeticiones cada uno, y cada repetición tendrá 7 unidades experimentales, adicionando un testigo absoluto **T<sub>0</sub>** con la misma cantidad de repeticiones e unidades experimentales, haciendo un total de 378 unidades, cada macetero representa una unidad experimental.

##### **2.2.3. Recolección y selección de fuente inóculo de CHMA**

La colecta de la fuente inóculo de los CHMA de campo, fue ejecutado en primera etapa como parte del proyecto “control del nemátodo del nudo (*Meloidogyne* spp.) en el cultivo de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) mediante el uso de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en San Martín” con convenio: N° 187 - 2015 del Laboratorio de Biología Molecular (LBGM), con la finalidad de identificar especies pertenecientes a estos consorcios, así mismo implementar el Banco de Micoteca instalado en el vivero de Multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares – LBGM- Facultad de Ciencias Agrarias – UNSM-T; se recolectó fuentes de inóculo de 18 localidades de parcelas de sachá inchi, de la región San Martín ubicadas en las provincias productoras de EL Dorado, Lamas, Bellavista, Picota y Bellavista.

#### A. Multiplicación de Hongos Micorrízicos Arbusculares

Las fuentes de inóculo de las localidades recolectadas fueron multiplicadas en camas de multiplicación de HMA ubicada en el “Vivero de Multiplicación de Hongos Micorrízicos Arbusculares” perteneciente al Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM) las cuales se realizó utilizando cultivos trampa maíz, sorgo y alfalfa en cada cama, estos cultivos son considerados multiplicadores de HMA.

De las 18 localidades muestreadas después de aproximadamente 10 meses de multiplicación se realizó las evaluaciones para determinar las localidades que presenten mayor densidad de esporas, considerando el mejor porcentaje de colonización y la mayor cantidad de número de especies que se presenten cada localidad, sobresaliendo las localidades de San Antonio de Rio Mayo (Provincia de Lamas), Nuevo Progreso (Provincia de Bellavista), Palmiche (Provincia de Lamas), Huañipo (Provincia de Picota) y Santa cruz (Provincia de El Dorado), las mismas que se tomaron para la ejecución del trabajo de investigación los cuales se muestran en la tabla 1.



**Tabla 1:**  
*Tratamientos en estudio*

Tratamiento	Localidades de procedencia de inóculo de CHMA	Inoculación con CHMA (Día 0)	Infestación con nemátodos (Día 0)	Infestación con nemátodos (Día 60)
T <sub>0</sub>	-	-	-	-
T <sub>1</sub>	San Antonio de Rio Mayo	X	-	-
T <sub>2</sub>	Nuevo Progreso	X	-	-
T <sub>3</sub>	Palmiche	X	-	-
T <sub>4</sub>	Huañipo	X	-	-
T <sub>5</sub>	Santa Cruz	X	-	-
T <sub>6</sub>	San Antonio de Rio Mayo	X	X	-
T <sub>7</sub>	Nuevo Progreso	X	X	-
T <sub>8</sub>	Palmiche	X	X	-
T <sub>9</sub>	Huañipo	X	X	-
T <sub>10</sub>	Santa cruz	X	X	-
T <sub>11</sub>	San Antonio de Rio Mayo	X	-	X
T <sub>12</sub>	Nuevo Progreso	X	-	X
T <sub>13</sub>	Palmiche	X	-	X
T <sub>14</sub>	Huañipo	X	-	X
T <sub>15</sub>	Santa Cruz	X	-	X
T <sub>16</sub>	-	-	X	-
T <sub>17</sub>	-	-	-	X

Fuente: Elaboración propia

#### 2.2.4. Descripción de los tratamientos en estudio

Todos los tratamientos presentan sustrato a base de tierra agrícola y arena, proporción 2:1 y sembradas con semilla de sachá inchi. El tratamiento T<sub>0</sub> es el testigo absoluto; los tratamientos T<sub>1</sub> al T<sub>5</sub> presentan inoculación con CHMA; los tratamientos T<sub>6</sub> al T<sub>10</sub> presentan CHMA + *Meloidogyne incognita* inoculados en el momento de la siembra de sachá inchi; los tratamientos T<sub>11</sub> al T<sub>15</sub> presentan CHMA inoculados en el momento de la siembra de sachá inchi + *Meloidogyne incognita* inoculados 60 días después; el tratamiento T<sub>16</sub> fue inoculado con *Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra de sachá inchi; el tratamiento T<sub>17</sub> fue inoculado con *Meloidogyne incognita* 60 días después de la siembra. Tal como se muestra a continuación:

- T0:** Testigo absoluto; macetas sembradas con semilla de Sacha inchi sin inoculación
- T1:** Macetas inoculadas con CHMA de la localidad de San Antonio de Rio Mayo (SARM) en el momento de la siembra de sachá inchi sin inoculación de *Meloidogyne incognita*.
- T2:** Macetas inoculadas con CHMA de la localidad de Nuevo progreso (NP) en el momento de la siembra de sachá inchi sin inoculación de *Meloidogyne incognita*.
- T3:** Macetas inoculadas con CHMA de la localidad de Palmiche (Pal) en el momento de la siembra de sachá inchi sin inoculación de *Meloidogyne incognita*.
- T4:** Macetas inoculadas con CHMA de la localidad de Huañipo (Hua) en el momento de la siembra de sachá inchi sin inoculación de *Meloidogyne incognita*.
- T5:** Macetas inoculadas con CHMA de la localidad de Santa cruz (SC) en el momento de la siembra (MS) de sachá inchi sin inoculación de *Meloidogyne incognita*.
- T6:** Macetas inoculadas con CHMA de la localidad de SARM en el momento de la siembra de sachá inchi sin inoculación de *Meloidogyne incognita*.
- T7:** Macetas inoculadas con CHMA de la localidad de NP en el momento de la siembra de sachá inchi sin inoculación de *Meloidogyne incognita*.
- T8:** Macetas inoculadas con CHMA de la localidad de Palmiche en el momento de la siembra de sachá inchi sin inoculación de *Meloidogyne incognita*.
- T9:** Macetas inoculadas con CHMA de la localidad de Huañipo en el momento de la siembra de sachá inchi sin inoculación de *Meloidogyne incognita*.
- T10:** Macetas inoculadas con CHMA de la localidad de SC en el momento de la siembra de sachá inchi sin inoculación de *Meloidogyne incognita*.
- T11:** Macetas inoculadas con CHMA de la localidad de SARM en el momento de la siembra de sachá inchi con inoculación de *Meloidogyne incognita* 60 días después de la siembra
- T12:** Macetas inoculadas con CHMA de la localidad de NP en el momento de la siembra de sachá inchi, con inoculación de *Meloidogyne incognita* 60 días después de la siembra
- T13:** Macetas inoculadas con CHMA de la localidad de Pal. en el momento de la siembra de sachá inchi, con inoculación de *Meloidogyne incognita* 60 días después de la siembra
- T14:** Macetas inoculadas con CHMA de la localidad de Hua. en el momento de la siembra de sachá inchi con inoculación de *Meloidogyne incognita* 60 días después de la siembra
- T15:** Macetas inoculadas con CHMA de la localidad de SC en el momento de la siembra de sachá inchi con inoculación de *Meloidogyne incognita* 60 días después de la siembra
- T16:** Macetas sembradas con semilla de sachá inchi inoculados con *Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra, sin inoculación de CHMA.
- T17:** Macetas sembradas con semilla de sachá inchi inoculados con *Meloidogyne incognita* 60 días después de la siembra, sin inoculación de CHMA.

### 2.2.3. Población

Las provincias de El Dorado (localidad: Santa Cruz), Picota (localidad: Huañipo), Lamas (Localidades: San Antonio de Rio Mayo y Palmiche) y Bellavista (Nuevo Progreso) de la región San Martín. Son las que tienen localidades productoras de sachá inchi. Así mismo lugar de donde se recolectará muestra de raíces infestadas con nemátodos y suelo con micorrizas para su posterior multiplicación.

### 2.2.4. Muestra

Plantones de *Plukenetia volubilis* inoculadas con Consorcios de Hongos Micorrízicos Arbusculares e infestados con nemátodos, en condiciones de vivero y en tiempos diferentes.

### 2.2.5. Sistema de hipótesis

**H<sub>a</sub>:** Los Consorcios de Hongos Micorrízicos Arbusculares ejercen un control sobre la dinámica poblacional de *Meloidogyne incognita* en plantones de sachá inchi.

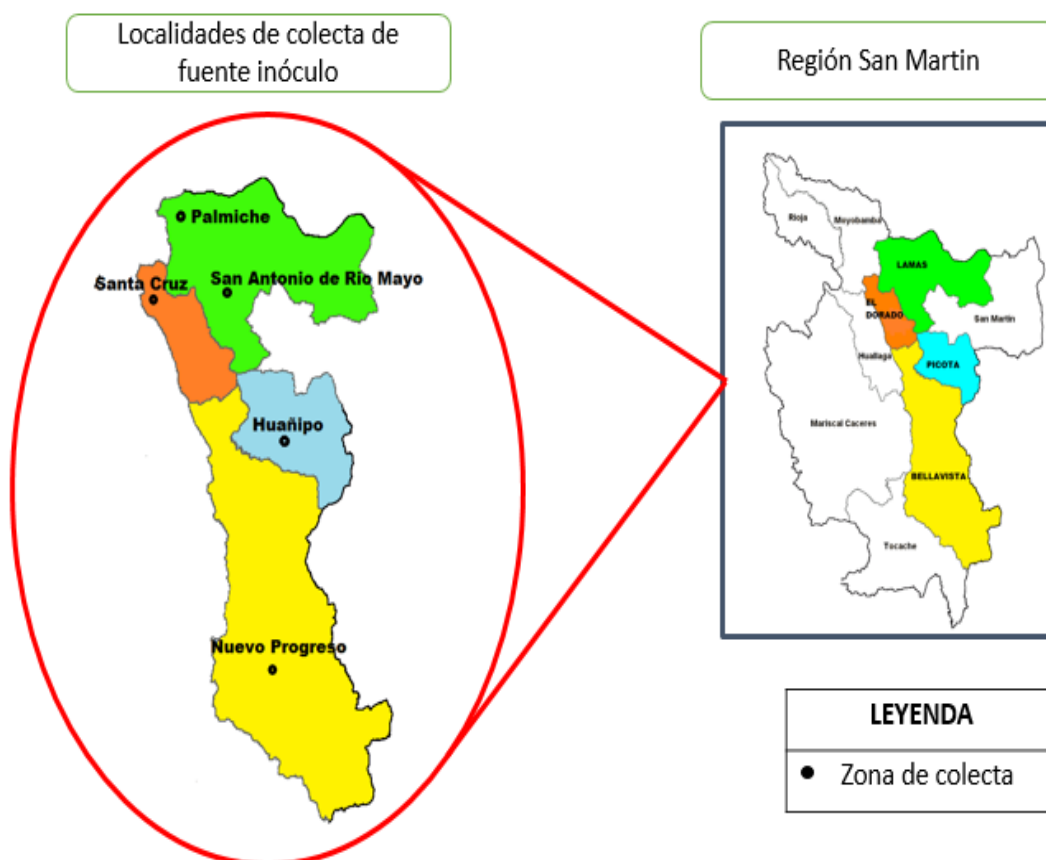
**H<sub>0</sub>:** Los Consorcios de Hongos Micorrízicos Arbusculares no ejercen un control sobre la dinámica poblacional de *Meloidogyne incognita* en plantones de sachá inchi.

## 2.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

### 2.3.1. Área de estudio

Se recolectó muestras de 5 localidades de la región San Martín (Palmiche, San Antonio de Rio Mayo, Huañipo, Santa Cruz y San Antonio) de la Región San Martín. Las evaluaciones de diversidad de HMA y colonización Micorrízica fueron conducidas en las instalaciones del vivero perteneciente al Laboratorio de Biología y Genética Molecular – Facultad de Ciencias Agrarias de la

Universidad Nacional de San Martín - T, en el Distrito de Morales, Provincia San Martín, Departamento de San Martín.



**Figura 3:** Zona de área de colecta de CHMA y *Meloidogyne incognita*.

### 2.3.2. Ubicación del ensayo

El trabajo de investigación se desarrolló en el vivero, perteneciente al “Laboratorio de Biología y Genética Molecular(LBGM)”, ubicado en la “Facultad de Ciencias Agrarias” de la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto (UNSM-T). Fue establecido bajo condiciones controladas en el invernadero; con temperatura mínima 25°C media 27°C y máxima de 33°C la humedad oscila entre el 40% y 85%. La noche la temperatura oscilaba entre 18 ° C y 21 ° C y la humedad 75%.



**Figura 4:** **A:** Vivero de instalación del proyecto de tesis; **B:** Laboratorio de biología y Genética Molecular

#### A) Ubicación Política

Distrito : Morales

Provincia : San Martín

Departamento : San Martín

#### B) Ubicación Geográfica

Latitud Sur : 06°35'28"

Longitud Oeste : 76°18'47"

Altitud : 230 m.s.n.m.m

### 2.3.3. Fases de instalación del proyecto.

#### A.1. Fase de campo

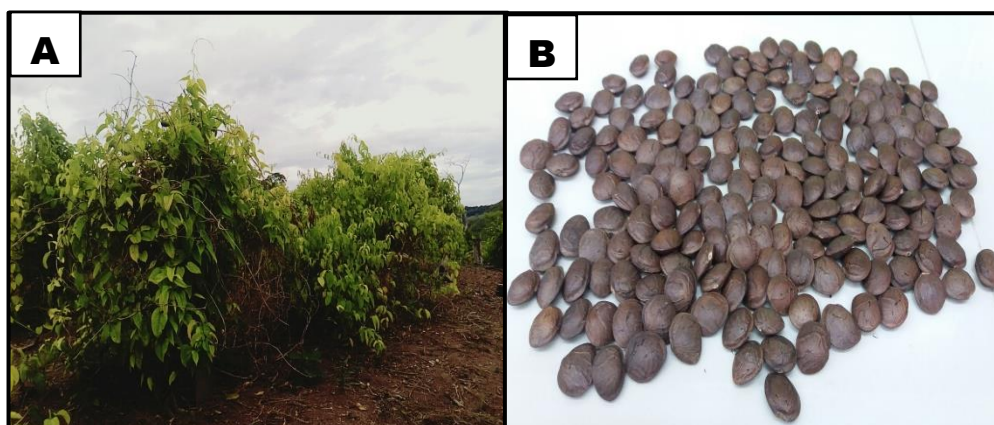
- **Selección de CHMA como fuente de inóculo.**

Para la selección de la fuente inóculo CHMA se recurrió al banco de Micoteca del vivero de multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares perteneciente al Laboratorio de Biología Molecular LBGM – FCA-UNSM-T.

- **Recolección de semillas de sachá inchi**

La semilla de *Plukenetia volubilis*, se recolectó en localidad de Lamas, sector Shanantina, de la parcela del señor Alberto Sinarahua Sangama se recolectó 2kg en el cuál hubo el número necesario de semillas en buenas condiciones ya que el experimento contó con 378 plantas, distribuidos en tratamientos de

acuerdo a las localidades de la fuente de inóculo y el tiempo de infestación de nemátodos.



**Figura 5:** A: Plantas de sacha inchi; B: Semilla de sacha inchi recolectada.

## A.2. Fase laboratorio

- **Esterilización de sustrato**

Se colocó en bolsas de polipropileno la tierra agrícola y la vermiculita, selladas. Luego se las colocó en una autoclave para ser esterilizadas a 120 °C por 30 minutos



**Figura 6:** Autoclavado de tierra agrícola y arena para la preparación del sustrato.

- **Tamizado en húmedo y decantación de esporas**

El aislamiento de esporas se realizó según el método de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963).

Este procedimiento se realizó para conocer el número de esporas por 10 gramos de suelo de cada localidad, para la inoculación necesaria (2000 esporas/maceta). Para el cuál se realizó el siguiente procedimiento denominado “Tamizado en húmedo y decantación” (Gerdemann y Nicolson, 1963).

Esta técnica de tamizado y decantación se usa con la finalidad de obtener, contar e identificar los Hongos Micorrízicos Arbusculares, el procedimiento es el siguiente: **1)** Se pesó 10g de suelo y se hizo una suspensión en dos litros de agua; **2)** la suspensión se agitó mecánicamente durante 10 segundos y se dejó reposar 20 segundos, para eliminar partículas grandes por sedimentación; **3)** la suspensión se pasó por tamices de 250 y 38 micras, lavando con agua abundante; **4)** se agregó agua al decantado y se repitieron 4 veces más los pasos anteriores; **5)** posteriormente, el tamizado obtenido de la malla de 38 micras que contiene las esporas se colocó en tubos falcon de 50ml en cual contiene sacarosa de 20% y 60%, 20ml y 10 ml respectivamente, el cual se observa que la mayor concentración se acula en el fondo del tubo y la menos concentración en la parte superior; **6)** la muestra se coloca en la centrifuga, los pares de tubos de manera opuesta para el equilibrio del rotor; se coloca a 3500rpm por 4 minutos y **7)** finalmente después se coloca el sobrenadante en placas Petri y se observa al estereoscopio. De esta manera se obtiene el consorcio de Hongos Micorrízicos Arbusculares; se observaron muestras de suelo de las Provincias de Lamas, Bellavista, Picota y El Dorado cada uno con 3 localidades.

- **Tinción de raíces**

La tinción se realizó de acuerdo con la técnica de Phillips y Hayman (1970) con modificaciones, el cuál deriva en lo siguiente: **1.** Lavar la biomasa radicular con abundante agua para retirar restos de suelo u otros; **2.** Se seleccionan las raíces finas con mucho cuidado teniendo en cuenta escoger las que no muestran daño y

que sean lisas; es decir, que no tengan nudos u otras raíces sobre él, con una medida de 2cm de largo; **3.** Se coloca las raíces en tubos falcon y se agrega solución de KOH al 10% (peso/volumen), la cantidad necesaria que sobrepasen las raíces; **4.** Se coloca la muestra en baño maría a 90°C por 60 minutos. **5.** Luego, aplicar Agua Oxigenada (Peróxido de Hidrógeno) 20 Volúmenes sobre la muestra recién retirada del baño maría, el doble de volumen que presenta el KOH más raíces; por un (1) minuto. Cumplido el tiempo vertir el líquido de la muestra cuidadosamente para evitar la caída de las raíces; **6.** Seguidamente se agrega tinta PARKER al 5,7% la cantidad necesaria que sobrepase las raíces, y dejar reposar por 10 minutos. Luego llevar al baño maría por 10 minutos. Después dejar enfriar y lavar con abundante agua (3 veces). **7.** Finalmente aplicar lactoglicerol (proporción 1:1:1 de agua, glicerol y ácido láctico respectivamente) a la muestra para desteñir las raíces y conservar la muestra que será evaluada para determinar el porcentaje de colonización.

- **Tinción de Micelio Extraradical de HMA nativos**

Se realizó utilizando la técnica del gel semisólido y cuantificación por el método de intersección de cuadrantes (Robles 2009), de acuerdo con el siguiente procedimiento: **1.** Se pesó una muestra de 1g de suelo previamente secado bajo sombra y luego se colocó en un vaso precipitado de 250 ml; **2.** Se agregó una pequeña cantidad de vinagre (4,5%) por 10 minutos, para dispersar los agregados del suelo y acidificar los segmentos de micelios; **3.** Luego se añadieron 5 ml de solución de tinta “Parker” al 5,7% disuelto en ácido acético, seguidamente, se dejó reposar a temperatura de ambiente por 30 minutos. Luego se enrazó a 100ml con agua destilada; **4.** Luego se colocó la muestra en baño maría (90°C), por un periodo de 90 minutos, y durante este periodo se agitó la muestra constantemente.; **5.** Para eliminar las fracciones más finas del suelo la mezcla resultante se pasó por un tamiz con luz de malla de 38 µm, el material retenido en el tamiz fue depositado nuevamente en el mismo vaso precipitado y se enrazó a 50 ml con agua destilada.; **6.** Se calentó esta muestra en baño maría (90°C) por 1 minuto y posteriormente se enrazó a 100ml (Agregando 50ml de agar-agar al 1,46% en concentración peso volumen), esta solución se dejó reposar por aproximadamente 5 minutos más en baño maría (90°C); **7.** En el baño maría se mezcló la muestra hasta homogenizar



la suspensión y se tomó 10ml con pipeta para distribuir homogéneamente en una placa Petri; **8.** Se dejó enfriar la muestra hasta la formación de un gel semisólido, en la que se observó en el Estereomicroscopio a 10X.5X de aumento, colocando en la base de la placa una rejilla cuadriculada de 0,5 cm<sup>2</sup>, para poder realizar la cuantificación de las hifas.

### **A.3. Fase de vivero**

- **Preparación de sustrato para la instalación del experimento**

La colecta del sustrato (tierra agrícola) se extrajo del fundo Aucaloma, propiedad de la Universidad Nacional de San Martín. El mismo que fue esterilizado con la finalidad de que no exista algún factor que puedan modificar o alterar los resultados de la investigación. En el experimento se utilizó como sustrato, tierra agrícola con arena gruesa de río esterilizadas en olla autoclave a 120°C por 20 minutos, en proporción 2:1

- **Llenado de maceteros**

El llenado de maceteros se realizó en un número de 378 unidades en el cuál fue al mismo tiempo con la inoculación de los CHMA y la siembra de la semilla de Sacha Inchi.



**Figura 7.** Macetas de plástico (3Kg) conteniendo sustrato (Tierra agrícola + arena gruesa de río; 2:1)

- **Inoculación con Consorcios de Hongos Micorrízicos Arbusculares**

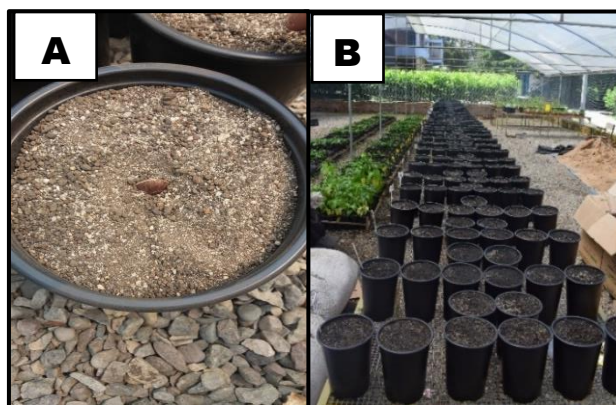
La inoculación consistió en agrupar cantidades de suelo rizosférico (fuente inóculo de CHMA), previamente la densidad de esporas fue estimada; El suelo rizosférico perteneciente a una localidad seleccionada (San Antonio de Rio Mayo, Nuevo Progreso, Palmiche, Huañipo y Santa Cruz) fue inoculado en el momento de la siembra de sachá inchi aproximadamente 2000 esporas/maceta.



**Figura 8. A:** Inoculantes de HMA; **B:** Mezcla de la fuente de inóculo con sustrato; **C:** Homogenización del sustrato con el inóculo

- **Siembra de semilla de sachá inchi**

Para la siembra de sachá inchi se procedió a colocar una semilla por maceta, sobre la fuente el sustrato, para que cuando la semilla germine, emerja y obtenga las primeras raíces se profundice y pase por la fuente de inóculo de manera que inicie la relación entre ellos.



**Figura 9.** **A:** siembra de semilla de sachá inchi; **B:** Distribución de los tratamientos (macetas).

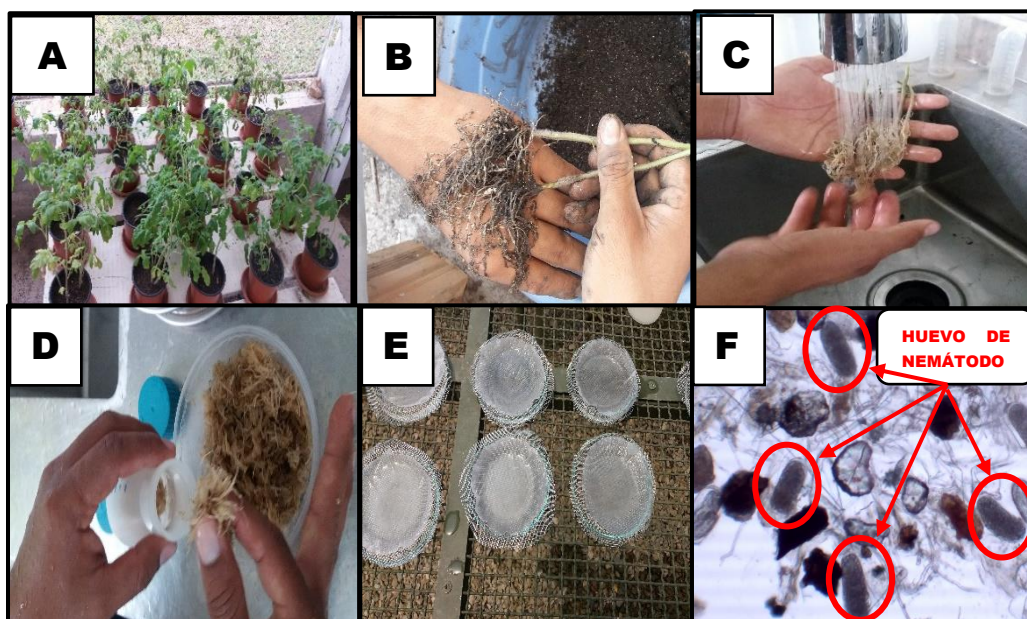
- **Obtención de fuente inóculo (*Meloidogyne incognita*)**

La colecta de la fuente inóculo de nemátodos (*Meloidogyne incognita*) fue extrayendo muestras de raíces de sachá inchi de campo que presentan agallas por ende taque de nemátodos; fue ejecutado en primera etapa como parte del proyecto “control del nemátodo del nudo (*Meloidogyne* spp.) en el cultivo de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) mediante el uso de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en San Martín” con convenio: N° 187 - 2015 del Laboratorio de Biología Molecular (LBGM), con la finalidad de identificar que especies atacan principalmente al cultivo de sachá inchi, así mismo implementar el Banco de nematología instalado en el vivero del LBGM- Facultad de Ciencias Agrarias – UNSM-T; se recolectó fuentes de inóculo de parcelas de sachá inchi de la región San Martín ubicadas en las provincias productoras de EL dorado, Lamas, Bellavista, Picota y Bellavista las cuales después de la identificación a través de cortes perineales y corrida de claves fueron multiplicados en plántulas de tomate como cultivos puros.

- **Extracción de huevos de *Meloidogyne incognita***

Se extrajo nemátodos (*Meloidogyne incognita*) del banco de nematología de cultivos puros del Laboratorio de Biología y Genética Molecular. Los cuales son multiplicados en el cultivo de tomate siguiendo la metodología extraídos siguiendo la metodología de Coolen (1979), con modificaciones, el procedimiento es el siguiente: **1.** Se extraen las raíces con nódulos y agallas y se lavan con abundante agua suavemente, para quitar el suelo y evitar perder masas de huevos de las raíces; **2.** Picar las raíces, separando del tallo; **3.** Preparar una solución de

Hipoclorito de sodio (Lejía) al 1% para aplicar sobre las raíces durante el licuado y favorecer a la separación de los huevos de las masas ligadas a las raíces; **4.** Colocar una pequeña porción de raíces (100g aproximadamente) en la licuadora junto al hipoclorito, teniendo en cuenta que el volumen de la lejía tiene que ser a la misma altura de las raíces; **5.** Licuar por 3 veces consecutivas de 10 segundos cada repetición de cada muestra colocada; **6.** Colocar sobre 3 tamices, de 37, 53 y 67  $\mu\text{m}$  respectivamente, lavando con abundante agua con la finalidad de recolectar la muestra del tamiz de 37 micras donde se encuentran los huevos de nemátodos (*Meloidogyne incognita*); **7.** Lo acumulado en el tamiz de 67  $\mu\text{m}$  volver a licuar repitiendo los procedimientos anteriores **5** y **6**; Finalmente usar las muestras para el fin que se designe (conteo de huevos de nemátodos, Obtención de J2, etc.)



**Figura 10.** **A:** Plantas de tomate infestados con *Meloidogyne incognita*; **B:** Separación de la raíz del suelo; **C:** Lavado de la raíz; **D:** Mezclado de la raíz con Hipoclorito de sodio al 1%; **E:** Mallas con huevos de *Meloidogyne incognita*; **F:** Huevos de *Meloidogyne incognita* observadas en microscopio a un aumento de 10X

- **Obtención del segundo estadio juvenil (J2) de *Meloidogyne incognita* para la inoculación en las macetas con sachá inchi.**

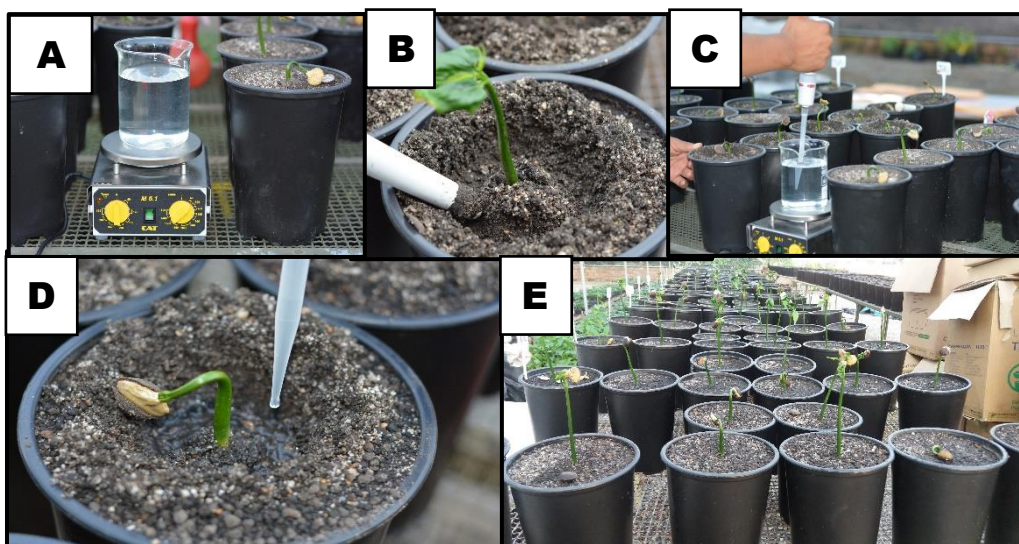
Después de obtener los huevos de *Meloidogyne incognita* explicados en el proceso anterior, éstos se colocan sobre una placa Petri, la placa contiene agua hasta el ras de una malla y sobre éste un papel toalla. Los huevos se colocan sobre el papel



toalla, los nemátodos al eclosionar buscan la mayor humedad posible, es allí que se profundizan penetrando al papel toalla, yendo hacia el interior (Profundidad), (ver figura 11E); éstos eclosionados son los denominados segundo estadio juvenil de nemátodos (J2), se inocularon es este estadio por ser el único estadio móvil y activos de los nemátodos capaz de infectar y causar daño al cultivo.

- **Primera infestación con nemátodos J2 en los plantones de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*)**

Después de obtenida la alícuota con la cantidad necesarios de nemátodos. Se procedió a infestar los plantones de sachá inchi, este procedimiento se realizó con la ayuda de una pipeta graduada y se inoculó con 2000 *M. incognita* (J2). Ferreira y Crozzoli (1995), (citado en Rojas y Salazar, 2013) con modificaciones. Los tratamientos inoculados fueron del T6 al T11 y el T16.



**Figura 11.** A: Homogenización de la alícuota con *Meloidogyne incognita*; B: Apertura del hoyo; C: Pipeteado de *Meloidogyne incognita*; D: Inoculación; E: Macetas con plantones de sachá inchi infestados con *Meloidogyne incognita*.

- **Segunda infestación con nemátodos J2 en los plantones de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*)**

La segunda inoculación con J2 de *M. incognita* se realizó 60 días después de la siembra (DDS) Basándose en la metodología de Ferreira y Crozzoli (1995), (citado en Rojas y Salazar, 2013) (Ver figura 11). Para la segunda infestación se tuvo en cuenta como característica principal que los CHMA ya hayan sido

colonizado las raíces de sachá inchi para determinar el efecto de éstos. Los tratamientos inoculados fueron del T11 al T15 y el T17.

- **Riego**

El método que se utilizó para el riego fue en forma de agua de lluvia muy fina esto debido a que las plantas evitar ser dañados en sus estructuras. Para ello se utilizó una regadora con agua natural. Para mantener el sustrato a capacidad de campo (Reyes, 2015).

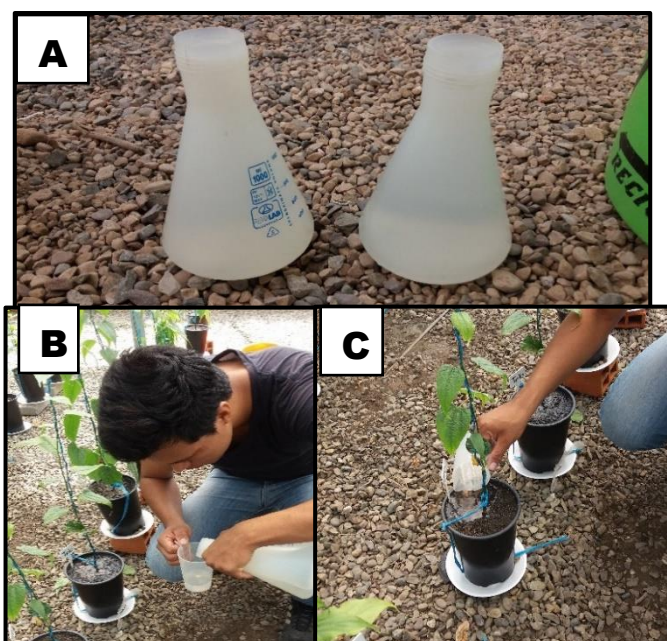
- **Aplicación de solución nutritiva**

Se aplicó solución nutritiva cada 15 días a partir del primer mes, 75 ml de solución por planta, ésta contiene los siguientes nutrientes:

**Tabla 2:**  
*Aplicación de nutrientes*

<b>Compuestos Nutritivos</b>	<b>Cantidad para 1L de solución (ml)</b>
Nitrato de potasio	5
Sulfato de magnesio	5
Nitrato de calcio	5
Elementos traza	1
Solución citrato	5

*Fuente:* Elaboración propia



**Figura 12.** A: Solución nutritiva; B: Vertido de la solución; C: Aplicación de la solución nutritiva en plántones de sachá inchi.

## 2.4. Variables evaluadas

### 2.4.1. Variables morfológicas

- **Altura de plántulas de sachá inchi.**

Se midió desde la base del tallo hasta yema terminal o meristemo apical de la planta con una regla milimetrada, esta evaluación se realizó cada 15 días a partir de la siembra.



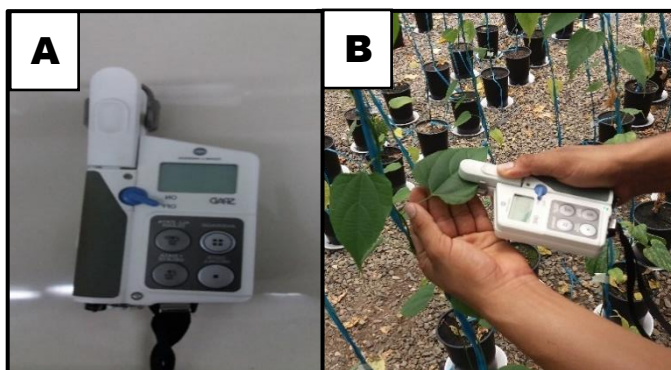
**Figura 13.** Medición de altura de planta.

- **Número de hojas de plántulas de sachá inchi**

Se contó de manera visual las hojas visibles y completamente formadas desde la base hasta la parte superior del plantón de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L). Esta evaluación se realizó cada 15 días después de la siembra.

- **Porcentaje de clorofila de plántulas de sachá inchi**

Las hojas de plántulas de sachá inchi se evaluaron después de los 105 días en condiciones de vivero, se tomó 5 hojas de cada plántula de sachá inchi, aquellas hojas bien formadas y no maduras ubicadas entre el nudo 20 – 25 con la finalidad de obtener datos uniformes; para medir se tomó una hoja individualmente y se midió con un equipo especializado denominado “MEDIDOR DE CLOROFILA” marca” SPAD “KONICA MINOLTA”



**Figura 14.** A: Equipo “Medidor de clorofila”; B: Medición de clorofila en hojas de plantas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.)

- **Área foliar de plántulas de sachá inchi**

Las hojas de plántulas de sachá inchi fueron extraídos después de los 105 días en condiciones de vivero, se cogió 10 hojas por planta de sachá inchi, aquellas hojas ubicadas entre el nudo 20 y 30 con la finalidad de obtener muestras homogéneas, posteriormente se escaneó las hojas de cada planta, un total de 70 hojas por repetición, teniendo en cuenta que se tuvo 7 plantas por repetición. Finalmente se sometió las hojas escaneadas a un programa especializado para determinar el área foliar denominado “FIJP”.



- **Peso fresco de la biomasa de plántulas de sachá inchi**

Las plántulas de sachá inchi fueron extraídos a los 105 días en condiciones de vivero; se pesó raíces, hojas y tallo en una balanza analítica y se anotó los datos.



**Figura 15.** Pesado de biomasa fresca (hojas. Tallo y raíces) de una plántula de sachá inchi

- **Peso seco de parte aérea de plántulas de sachá inchi**

Las plántulas de sachá inchi fueron extraídos a los 105 días en condiciones de vivero; luego de 48 horas de haber sido sometido en la estufa a 60°C se extrajo las muestras y se pesó en una balanza analítica, se pesó sólo la parte aérea (Hoja y tallos), la raíz es sometida a evaluación para extraer los nemátodos finales con esta razón no se somete a secado.

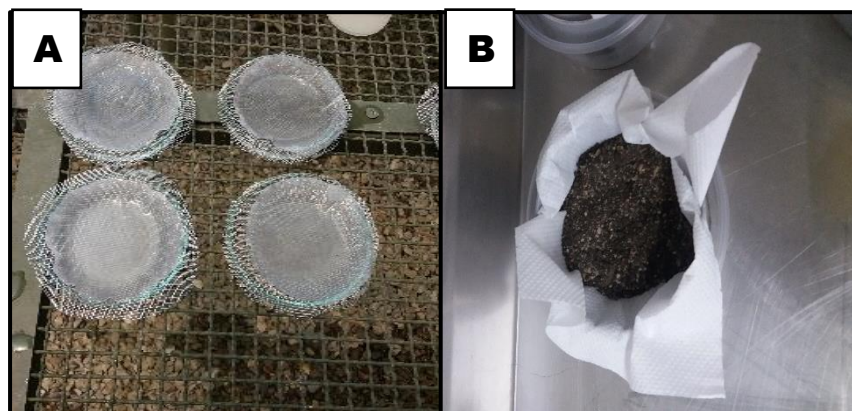


**Figura 16.** Pesado parte aérea de plantones de sachá inchi.

#### 2.4.2. Variables biológicas

- **Población de nemátodos en suelo y raíces de sachá inchi**

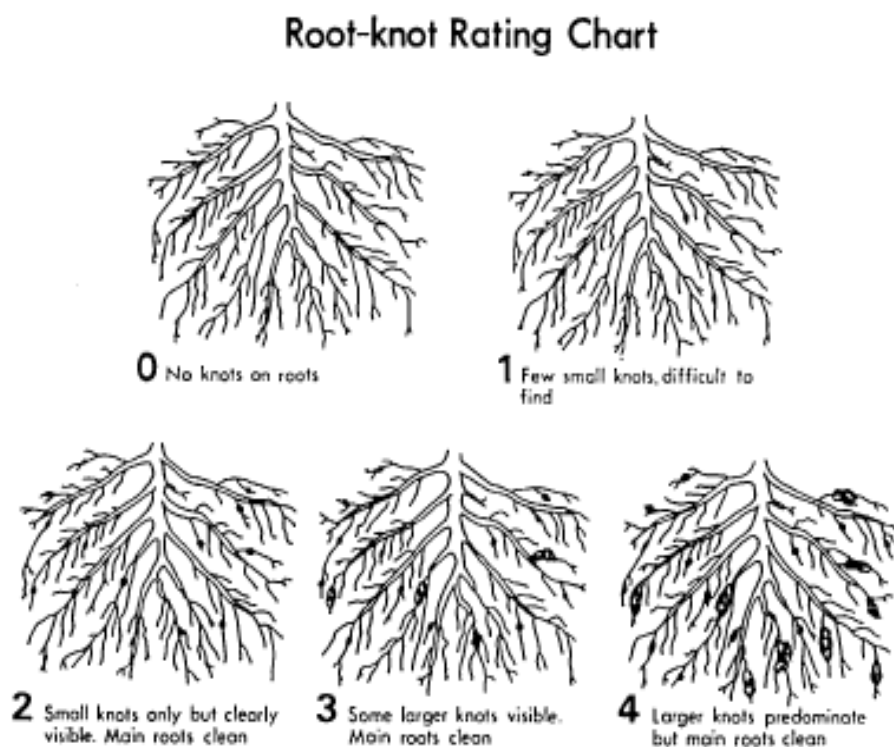
Las raíces de plántulas de sachá inchi fueron extraídas a los 105 días en condiciones de vivero, es por ello que es necesario que a partir de las agallas y nódulos formados por *M. incognita*, extraerlos para contar la población final de nemátodos en raíces basado en Rojas y Salazar (2013). Además, en el suelo también hay *M. incognita*, es por ello, para determinar la población de *M. incognita* en el suelo, se utilizó el método de la bandeja con modificaciones, para lo cual se usó 100 cc de suelo de cada de cada repetición de los tratamientos en donde se inoculó los nemátodos, siendo este suelo colocado en una bandeja sobre un papel toalla para después agregarle agua hasta cubrir el suelo, estas bandejas se las dejó por un periodo de 48 horas. Finalmente se contó ambas muestras en un microscopio electrónico.



**Figura 17.** A: Extracción de nemátodos de raíces (Rojas & Salazar, 2013); B: Extracción de nemátodos de muestras de suelo.

- **Grado de infestación**

Las raíces de plántulas de sachá inchi fueron extraídas y evaluados a los 105 días en condiciones de vivero, la evaluación se realizó visualmente basándose en la metodología de Brige y Page (1980), que consiste en comparar la raíces de sachá inchi con la evaluación propuesta.



**Figura 18.** Escala de evaluación del grado de infestación propuesto por Brige y Page (1980).

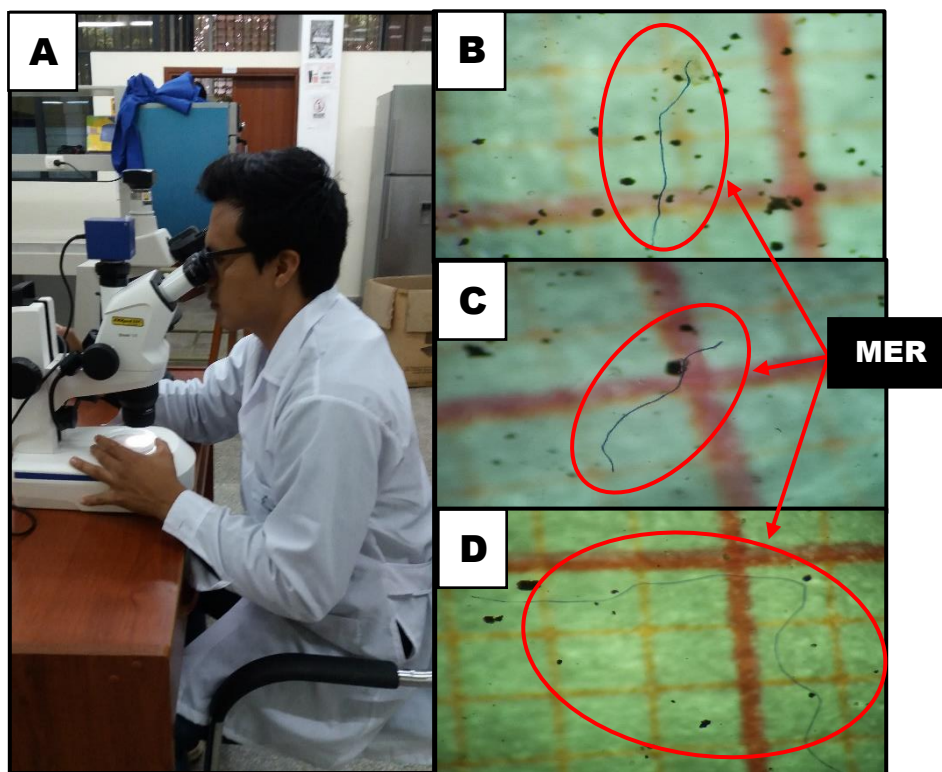
- **Determinación de la longitud de micelio extrarradical (MER)**

Se realizó utilizando la técnica del gel semisólido y cuantificación por el método de intersección de cuadrantes, metodologías propuestas por Robles (2009) con modificaciones. En la cual las muestra que previamente fueron preparadas siguiendo la metodología de tinción de micelio extrarradical, y fueron llevados a un microscopio estereoscópico de 5X, en la cual se contaron las intersecciones hifa-línea en 10ml de solución basándose en la fórmula de Tennant, (1980). Para determinar la longitud de micelio extrarradical se utilizó la siguiente fórmula:

$$LM = 11/14 * \text{número de intersecciones} * \text{unidad de medida}$$

Dónde:

LM: Longitud de Micelio extrarradical



**Figura 19.** A: Observación en estereoscopio para la evaluación de MER; B, C y D: Muestras de Micelio Extrarradical (MER) observados en estereoscopio a un aumento de 5X.

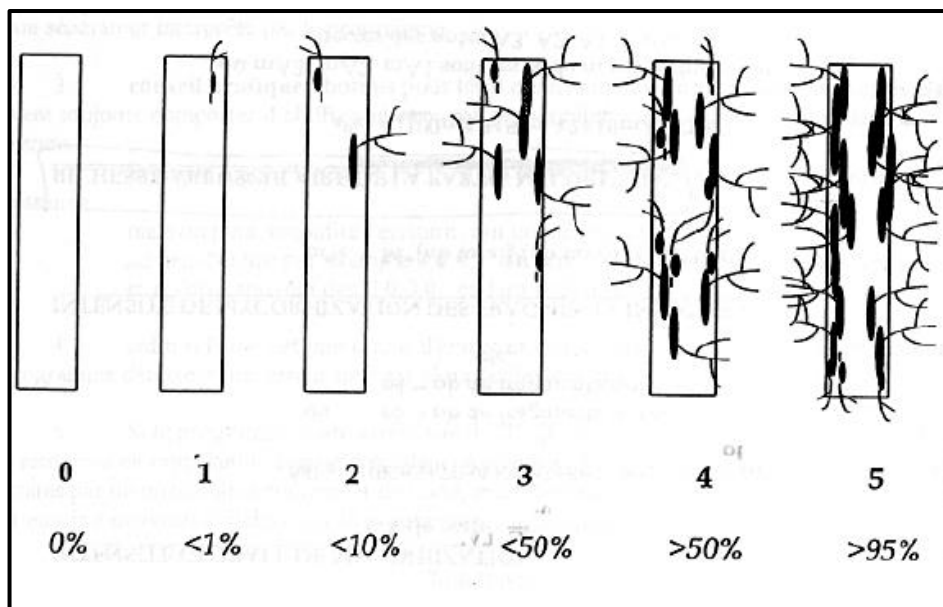
- **Determinación del porcentaje de colonización micorrízica**

Se realizó utilizando raíces tiernas (secundarias y terciarias) de cafeto, siguiendo la metodología de tinción de raíces propuesta por Phillips y Hayman (1970) y el protocolo de la técnica sistemática de porta objetos propuesta por León (2006) con modificaciones. Para determinar el porcentaje de micorrización a nivel del sistema radicular se calculó siguiendo la metodología propuesta por Trouvelot et al., (1986, citado en Gañán, *et al.*, 2011).

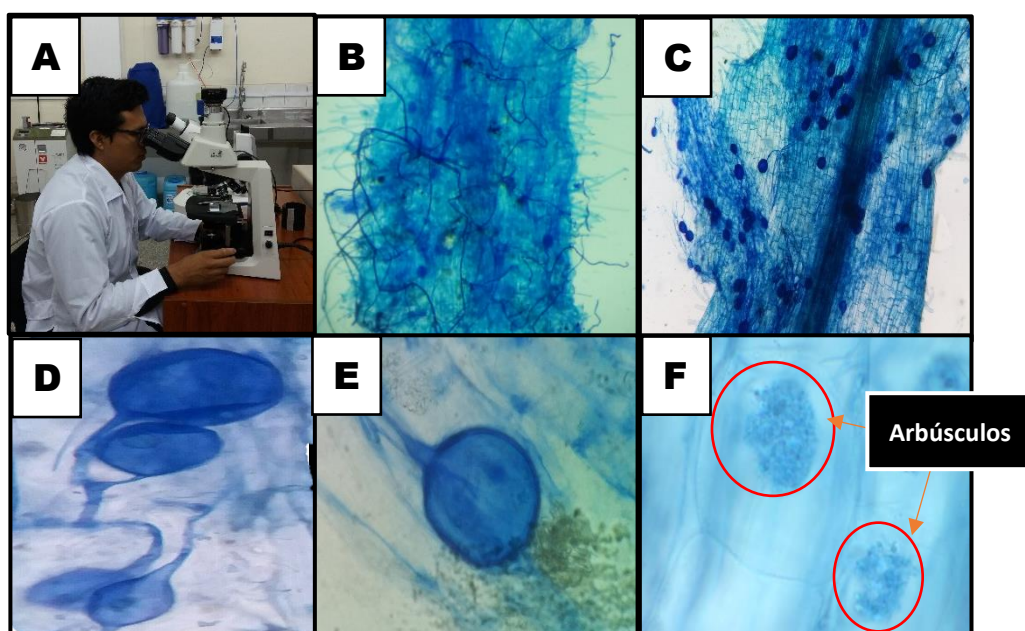
$$\%M = ((n1 + 5(n2) + 30(n3) + 70(n4) + 95(n5))/N$$

N= Número total de segmentos observados

n=Números de segmentos asignados con el índice 0, 1, 2, 3, 4 y 5



**Figura 20.** Escala gradual de intensidad de colonización, según Trouvelot *et al.*, 1986), citado en Gañán *et al.*, 2011).

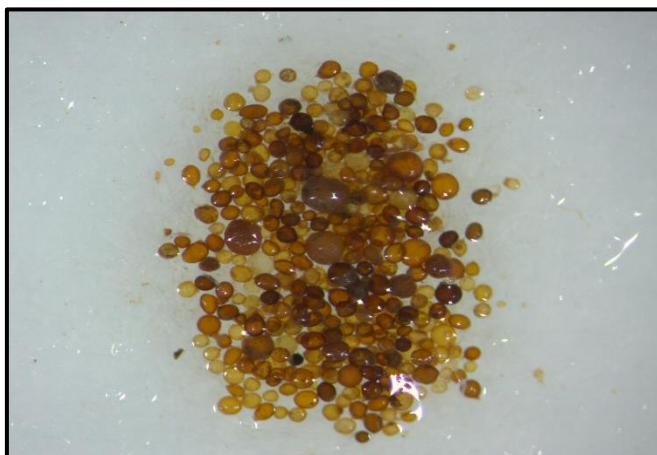


**Figura 21.** A: Evaluación de muestras en el microscopio; B: Raíz colonizada observando micelio extrarradical e intrarradical observada a 10X; C: Raíz colonizada mostrando vesículas observadas en microscopio a 10X; D: Vesícula observadas a 40X; E: Vesícula observadas a 40X; F: Arbuscúlos observados en microscopio a un aumento de 100X.

- **Densidad de esporas finales en el suelo.**

El aislamiento de esporas de HMA fue realizado para determinar los consorcios de hongos micorrízicos presentes en cada localidad inoculada en plántones de sachá inchi. El aislamiento se realizó según el método de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963). (ver figura 08)



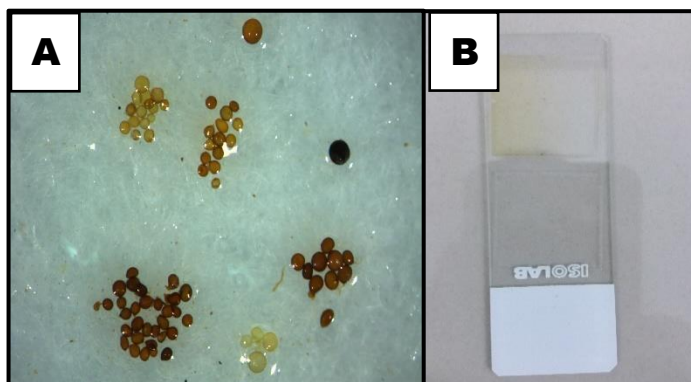


**Figura 22.** Consorcio de Hongos Micorrízicos Arbusculares (CHMA)

- **Identificación de especies de HMA**

**Montaje de esporas de HMA.**

Previo al montaje de esporas, estas fueron agrupadas en morfotipo (grupos de esporas de igual color, forma y tamaño); este proceso fue realizado con la ayuda de un estéreo microscopio. (Peña *et al.*, 2006). Posteriormente, se procedió a colocar en una lámina porta objeto cada morfotipo separados en dos grupos en paralelo, esto con la finalidad de agregar una gota de solución PVLG a un grupo y otra gota de PVLG + MELZER al otro grupo, con la finalidad de observar si existe reacción de las esporas ante el reactivo MELZER (cambio de coloración de la pared citoplasmática) y de esta manera hacer más visible su estructura interna.



**Figura 23.** **A:** Esporas agrupadas por morfotipo; **B:** Esporas montadas con PVLG Y PVLG MELZER

# CAPITULO III

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 3.1. Variables morfológicas

#### 3.1.1. Altura de plántulas de sachá inchi

La tabla 3 y el gráfico 1 muestran el ANVA y la prueba de Tukey ( $p<0,05$ ) respectivamente, para altura de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.

**Tabla 3:**

*ANVA de altura de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.*

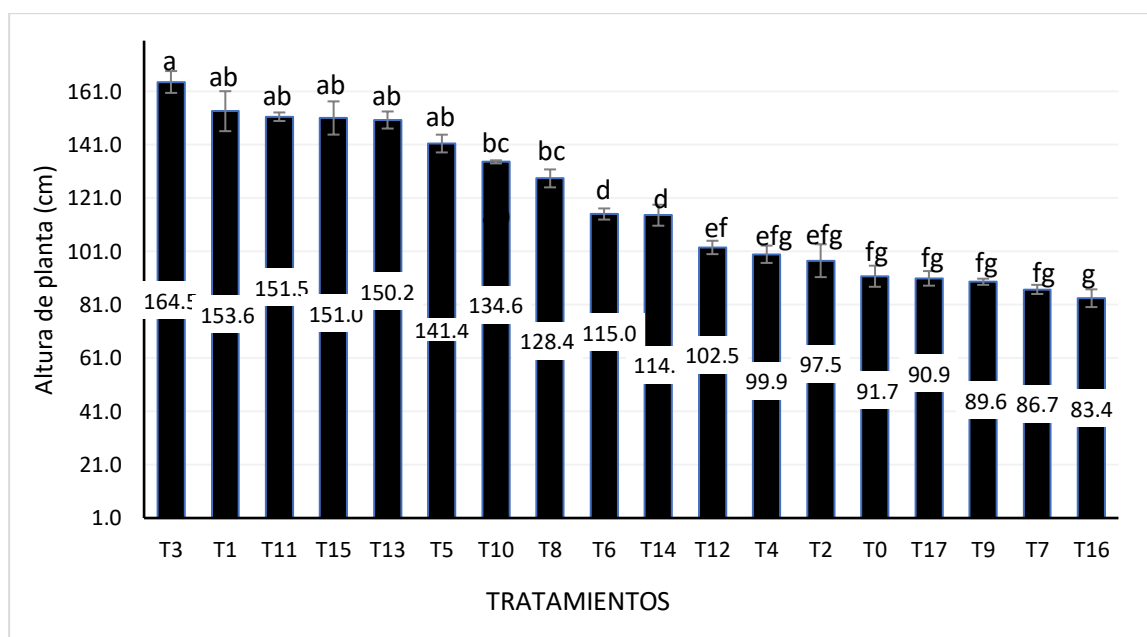
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTOS	35995,7	17	2117,39	14,07	<0,0001
REPETICIONES	293,48	2	146,74	0,98	0,3874
Error	5115,19	34	150,45		
Total	41404,37	53			

\*\* = Altamente Significativo

$R^2 = 88\%$

CV =9,42%

$\bar{X} = 117,7$  cm



**Gráfico 1:** Prueba de Tukey ( $p<0,05$ ) para altura de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a  $T^{\circ}$  media de  $28^{\circ}\text{C}$  y HR de 75%.

El análisis de varianza ( tabla 3) para altura de plántula entre los 18 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 117,7 cm con un coeficiente de variabilidad de 9,42% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 88%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey ( $p<0,05$ ) (Gráfico 1) muestra que el tratamiento T3 (CHMA - Palmiche) es el más sobresaliente de los tratamientos que fueron inoculados únicamente con CHMA (T1-T5), presentando la mayor altura de planta con 164,5cm, los tratamientos T1 y T5 son estadísticamente iguales presentando resultados menores que el T3, con 153,6 cm y 141,6 cm inoculados con CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo y Santa Cruz respectivamente. De los tratamientos que fueron inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra (T6-T10), el tratamiento T10 (CHMA–Santa Cruz) es el más sobresaliente con 134,8 cm de altura, seguido de los tratamientos T6 y T8, estadísticamente iguales con 115 cm y 128 cm inoculados con CHMA de San Antonio de Rio Mayo y Palmiche respectivamente; de los tratamientos que fueron inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 días DDS los tratamiento resaltantes y estadísticamente iguales son el T11, T13 y T15 con 151,5 cm, 150,2 cm Y 150cm respectivamente. Los tratamientos T16 y T17 fueron inoculados con *Meloidogyne incognita* presentan 83,4cm y 90,9cm respectivamente semejante al testigo absoluto T0 que tiene 91,7 cm de altura. Los resultados muestran el efecto de los CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz muestran mejores resultados en los inoculados sólo con CHMA en el momento de la siembra, con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra y CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS. Estos resultados muestran que los CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz tienen mejor efecto sobre altura de planta en diferentes escenarios (Inoculados con *M. incognita* en el día 0 y día 60).

Los tratamientos inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS muestran mejores resultados ratificando el efecto de CHMA para favorecer el crecimiento de plantones de *Plukenetia volubilis* y se demuestra comparando con los tratamientos que fueron inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra (día 0) y más aun con los tratamientos que sólo fueron inoculados con *Meloidogyne*



*incognita* (T16 y T17) y el testigo absoluto (T0) que presentan menor tamaño; resultado semejante a los reportados por Del Águila (2016), sus valores establecidos en el ensayo muestran que todos los tratamientos que tuvieron inóculo de HMA-N crecieron en altura más que el testigo; con una altura de 35% a 40% más que el testigo. Semejante a estos resultados también presenta Chinchay (2016), donde encontró alta significancia de los tratamientos inoculados con CHMA y con nemátodos 90 DDS mostraron mejores resultados con respecto a altura cultivo de cafeto, así mismo semejante a Carbajal, (2009), quien obtuvo también buenos resultados en altura de planta (56.63 cm) a nivel de vivero, trabajando con HMA nativos en respuesta al nematodo modulador de raíces (*Meloidogyne incognita*) en el cultivo de Hypericum, siendo en un principio inoculados con HMA y después de cuatro meses con nemátodos. Además, Siqueira *et al.*, (1995), encontraron que la inoculación con HMA influyen positivamente en su crecimiento en vivero y en la sobrevivencia y tolerancia al estrés al momento del trasplante semejante Así mismo Jiménez (1989), encontró en viveros donde se inocularon varias especies de HMA, se registraron un mayor crecimiento de plantas.

### 3.1.2. Número de hojas de plántulas de sachá inchi

La tabla 4 y el gráfico 2 muestran el ANVA y la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para el número de hojas de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días después de la siembra en condiciones de vivero.

**Tabla 4:**

*ANVA del número de hojas de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.*

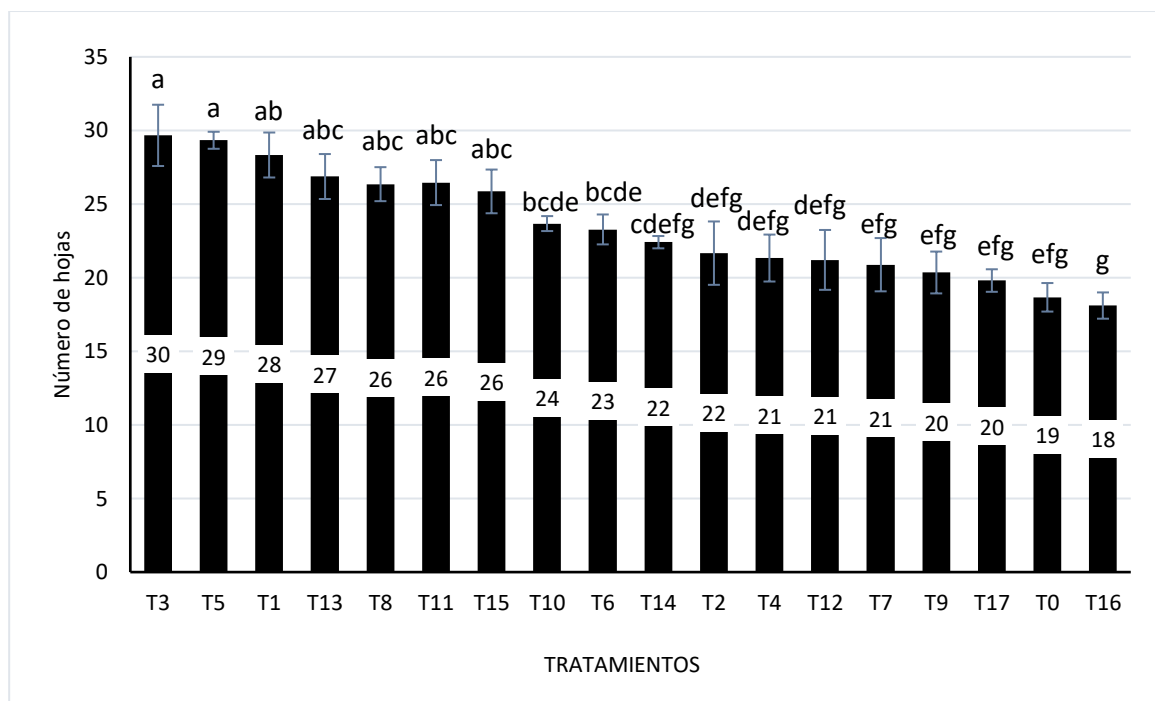
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>TRATAMIENTOS</b>	679,48	17	39,97	17,28	<0,0001
<b>REPETICIONES</b>	3,37	2	1,69	0,73	0,4899
<b>Error</b>	78,63	34	2,31		
<b>Total</b>	761,48	53			

\*\* = Altamente Significativo

$$R^2 = 90\%$$

$$CV = 6,47\%$$

$$\bar{X} = 24$$



**Gráfico 2:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) del número de hojas de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a T° media de 28°C y HR de 75%.

El análisis de varianza (tabla 4) del número de hojas de plantones de sachá inchi entre los 18 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 24 hojas con un coeficiente de variabilidad de 6,47% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 90%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 2) muestra que los tratamientos T1, T3 y T5 son estadísticamente iguales y los más sobresalientes de los tratamientos que fueron inoculados sólo con CHMA (T1- T5),, presentando los mayores número de hojas con 28, 29 y 30; de los tratamientos que fueron inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra (Día 0) de *Plukenetia volubilis* (T6-T10), el tratamiento T8 (CHMA - Palmiche) es el más sobresaliente con 26 hojas seguido de los tratamientos T6 y T10 que estadísticamente son iguales con 23 y 24 hojas inoculados con CHMA de San Antonio de Rio Mayo y Santa Cruz respectivamente; en los tratamientos que fueron inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 días DDS (T11 – T15) los tratamiento resaltantes y estadísticamente iguales son el T11, T13 y T15 con 26, 27 y 26 hojas inoculados con CHMA de las localidades de San Antonio d Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz respectivamente. Los

tratamientos T16 y T17 fueron inoculados con *Meloidogyne incognita* presentan 18 y 20 hojas respectivamente semejante al testigo absoluto (T0) que tiene 19 hojas. Estos resultados muestran que el efecto de los CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz muestran mejores resultados tanto en los inoculados sólo con CHMA en el momento de la siembra, con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra y CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS, además que los resultados sobresalen con respecto a los tratamientos que tuvieron únicamente *Meloidogyne incognita* y se complementa con el testigo absoluto que presentan resultados inferiores. Estos resultados muestran que los CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz tienen mejor efecto sobre altura de planta en diferentes escenarios (Inoculados con *M. incognita* en el día 0 y día 60).

Los tratamientos inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS muestran mejores resultados ratificando el efecto de CHMA para favorecer el incremento de número de hojas de *Plukenetia volubilis* y se demuestra comparando con los tratamientos que fueron inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra y más aun con los tratamientos que únicamente fueron inoculados con *Meloidogyne incognita* y el testigo absoluto que presentan menor número de hojas, pues se debe al efecto de los consorcios de los CHMA que favorecen a la nutrición de las plantas, impulsando al mejor desarrollo en el crecimiento de la planta alcanzando mayor altura por tanto mayor número de hojas, tal como muestra el presente proyecto, es así que, Koch *et al.*, (1997), en su investigación demuestra que la inoculación de CHMA en plantas eleva notablemente la tasa de fotosíntesis comparada con las plantas no inoculadas, y puede atribuirse el incremento en el crecimiento de las plantas micorrizadas a ese aumento de la actividad fotosintética favoreciendo a la vigorosidad de las plantas aumentando el número de hojas.

### 3.1.3. Contenido de clorofila de plántulas de sachá inchi

La tabla 5 y el gráfico 3 muestran el ANVA y la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para el Contenido de clorofila en plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.

**Tabla 5:**

ANVA del contenido de clorofila en plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.

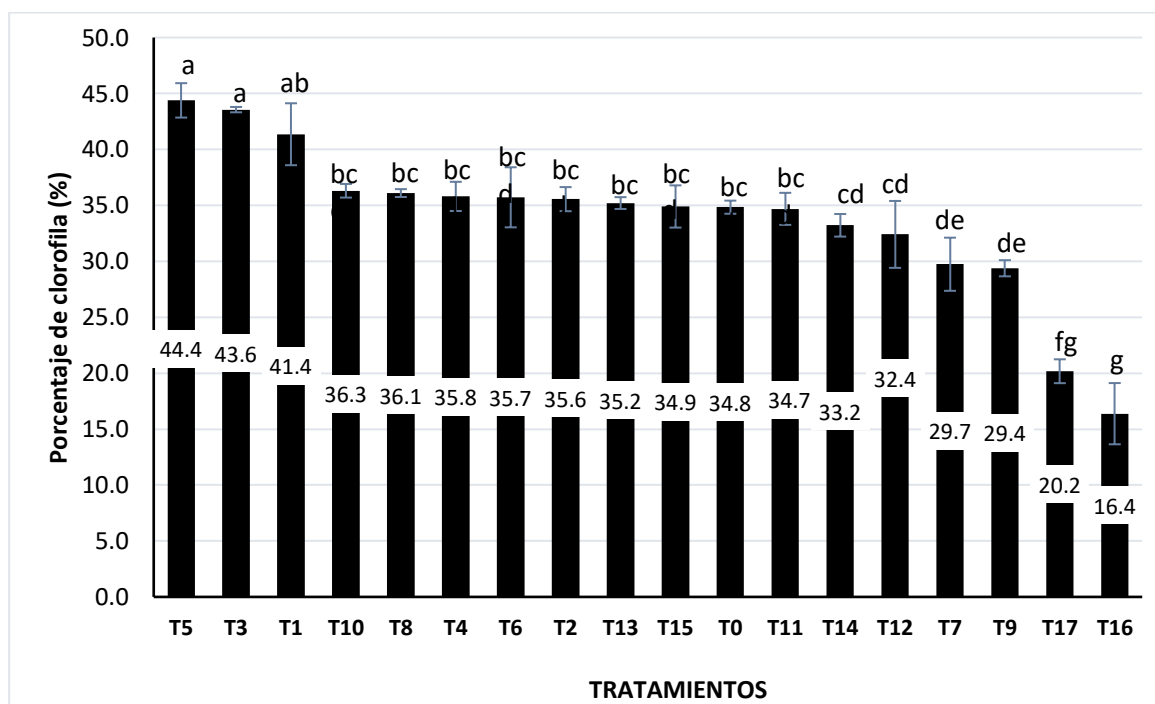
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>TRATAMIENTOS</b>	2686,92	17	158,05	31,42	<0,0001
<b>REPETICIONES</b>	20,92	2	10,46	2,08	0,1407
<b>Error</b>	171,04	34	5,03		
<b>Total</b>	2878,87	53			

\*\* = Altamente Significativo

$R^2 = 94\%$

CV = 6,73%

$\bar{X} = 33,3\%$



**Gráfico 3:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) del contenido de clorofila de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a  $T^\circ$  media de  $28^\circ\text{C}$  y HR de 75%.

El análisis de varianza (tabla 5) contenido de clorofila de plantones de sachá inchi entre los 18 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 33,3% con un coeficiente de variabilidad de 6,73% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 94%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 3) muestra que los tratamientos T3 y T5 son estadísticamente iguales, de los tratamientos que fueron

inoculados únicamente con CHMA (T1-T5) , con 41,4 % y 43,6 %, estos tratamientos contienen CHMA de las localidades de Palmiche y San Cruz respectivamente; de los tratamientos que fueron inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra (día 0) de *Plukenetia volubilis* (T6-T10), los tratamientos T6, T8 y T10 son más sobresalientes y estadísticamente iguales con 35,7%, 36,1% y 36,3% inoculado con CHMA de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz respectivamente; de los tratamientos inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 días después de la siembra (T11-T15), los tratamiento resaltantes y estadísticamente iguales son el T11, T13 y T15 con 34,8%, 35,2% y 34,8% inoculados con CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz respectivamente. Los tratamientos T16 y T17 fueron inoculados con *Meloidogyne incognita* presentan 16,4% y 20,2% respectivamente mientras el testigo absoluto (T0) con 38,4%. Estos resultados muestran el efecto de los tratamientos inoculados con CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz muestran mejores resultados tanto en los inoculados sólo con CHMA en el momento de la siembra, con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra y CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS con respecto a la variable contenido de clorofila. Estos resultados muestran que los CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz tienen mejor efecto sobre altura de planta en diferentes escenarios (Inoculados con *M. incognita* en el día 0 y día 60).

Los tratamientos inoculados con CHMA y CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS muestran mejores resultados ratificando el efecto de CHMA para favorecer el incremento del contenido de clorofila en hojas de *Plukenetia volubilis* y se demuestra comparándolos tratamientos que contienen CHMA con los tratamientos que únicamente fueron inoculados con *Meloidogyne incognita* (T16 y T17) y el testigo absoluto (T0) que presentan menor contenido de clorofila. Estos resultados son coherentes con la micorrización que genera incrementos de las tasas fotosintéticas (Smith y Read 1997; Augé 2001), es así que Rojas (2010) en su investigación corrobora que los HMA ejercen un efecto mutualista para la absorción de nutrientes mejorando el reciclado de nutrientes en el suelo y favoreciendo la actividad fotosintética y por tanto el contenido de clorofila.

### 3.1.4. Área foliar de plántulas de sachá inchi

La tabla 6 y el gráfico 4 muestran el ANVA y la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para el área foliar de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.

**Tabla 6:**

*ANVA del área foliar en plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.*

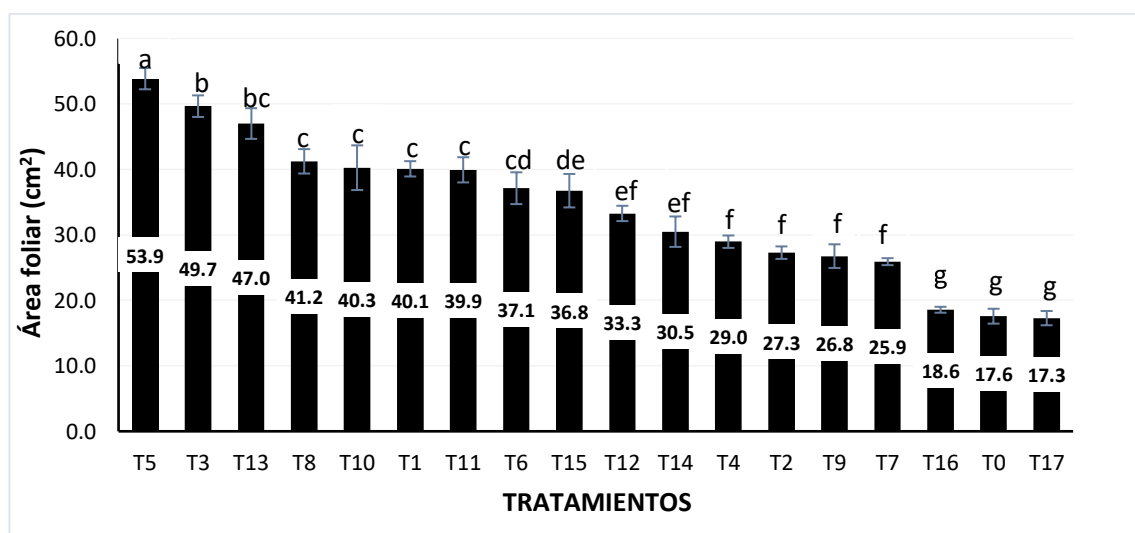
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>TRATAMIENTOS</b>	5933,28	17	349,02	120,78	<0,0001
<b>REPETICIONES</b>	19,54	2	9,77	3,38	0,0458
<b>Error</b>	98,25	34	2,89		
<b>Total</b>	6051,07	53			

\*\* = Altamente Significativo

$R^2 = 98\%$

CV = 5%

$\bar{X} = 34 \text{ cm}^2$



**Gráfico 4:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) del área foliar de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a  $T^\circ$  media de  $28^\circ\text{C}$  y HR de 75%.

El análisis de varianza (tabla 6) de área foliar de plantones de sachá inchi entre los 18 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de  $34 \text{ cm}^2$  con un coeficiente de variabilidad de 5% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 98%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 4) muestra que el tratamiento T5 (CHMA – Santa Cruz) es más sobresaliente de los tratamientos que fueron inoculados sólo con CHMA, con  $53,9 \text{ cm}^2$ , seguido de los tratamientos T3 y T1 con  $49,7 \text{ cm}^2$  y  $45,3 \text{ cm}^2$  inoculados con CHMA de Palmiche y San Antonio de Rio Mayo; de los tratamientos que fueron inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra (día 0) de *Plukenetia volubilis* (T6 - T10), los tratamientos T8 Y T10 son más sobresalientes y estadísticamente iguales con  $41,2 \text{ cm}^2$  y  $40,3 \text{ cm}^2$  inoculado con CHMA de Palmiche y Santa cruz respectivamente; de los tratamientos inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS (T11-T15) los tratamiento resaltantes y estadísticamente iguales son el T13 y T15 con  $47 \text{ cm}^2$  y  $49,2 \text{ cm}^2$  inoculados con CHMA de las localidades de Palmiche y Santa Cruz respectivamente. Los tratamientos T16 y T17 fueron inoculados con *Meloidogyne incognita* presentan  $18,6 \text{ cm}^2$  y  $17,3 \text{ cm}^2$  respectivamente y son estadísticamente iguales, mientras el testigo absoluto (T0) con  $26,8 \text{ cm}^2$ . Estos resultados muestran que el efecto de los tratamientos inoculados con CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz muestran mejores resultados tanto en los inoculados sólo con CHMA en el momento de la siembra, con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra y CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS, además que los resultados sobresalen con respecto a los tratamientos que tuvieron sólo *Meloidogyne incognita* y al testigo absoluto T0. Estos resultados muestran que los CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz tienen mejor efecto sobre altura de planta en diferentes escenarios (Inoculados con *M. incognita* en el día 0 y día 60).

Los tratamientos inoculados con CHMA y CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS muestran mejores resultados ratificando el efecto de CHMA para favorecer el incremento área foliar de *Plukenetia volubilis* y se demuestra comparando con los tratamientos que fueron inoculados únicamente con *Meloidogyne incognita* y el testigo absoluto (T0) que presentan menor área foliar, estos resultados muestran el efecto semejante a Del águila (2016), los resultados obtenidos, muestran que la inoculación con HMA nativos, resultó provechosa, lográndose incrementos en el área foliar que fluctuaron entre 77% más con relación a las plantas no inoculadas. Resultados similares a los encontrados por Fernández *et al.*, (2005), en sus investigaciones realizadas en café variedad Catuaí en etapa de vivero, con incrementos entre 6% y 140% de área foliar con

respecto a plantas no inoculadas con HMA, y también similares a Barrer (2009), que el uso de HMA en los tratamientos utilizados en su ensayo dieron un incremento en área foliar de 5 y 50% con respecto al testigo absoluto y de un 9 y 66% con respecto al testigo infestado con *Meloidogyne* spp Así mismo semejante a Chinchay (2016) con respecto al efecto de los CHMA ya que obtuvo áreas mucho más elevadas comparando al testigo.

### 3.1.5. Peso fresco de la biomasa de plántulas de sachá inchi

La tabla 7 y el gráfico 5 muestran el ANVA y la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para el peso fresco de biomasa en plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.

**Tabla 7:**

*ANVA del peso fresco de biomasa en plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>TRATAMIENTOS</b>	13673,78	17	804,34	307,73	<0,0001
<b>REPETICIONES</b>	2,59	2	1,3	0,5	0,6135
<b>Error</b>	88,87	34	2,61		
<b>Total</b>	13765,24	53			

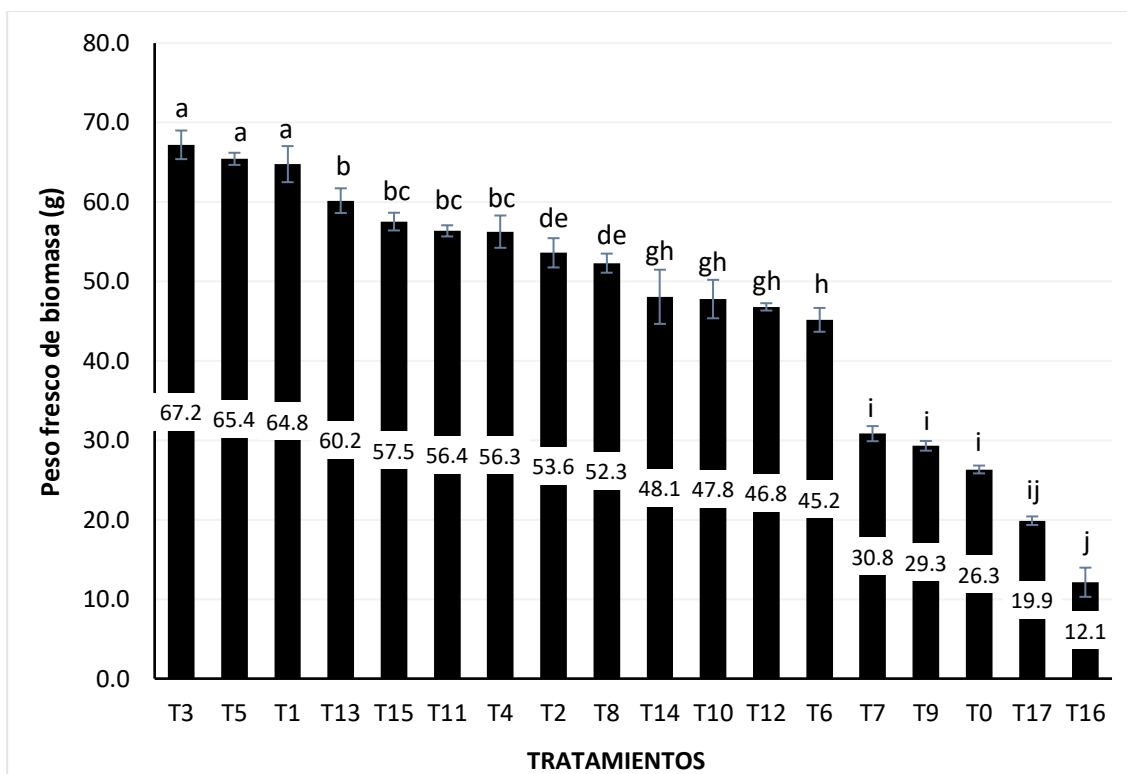
\*\* = Altamente Significativo

$R^2 = 99\%$

CV = 3,49%

$\bar{X} = 46,7 \text{ g}$





**Gráfico 5:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) del peso fresco de biomasa de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a  $T^\circ$  media de  $28^\circ\text{C}$  y HR de 75%.

El análisis de varianza (tabla 7) peso fresco de plantones de sachá inchi entre los 18 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 46,7g con un coeficiente de variabilidad de 3,49% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 99%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 5) muestra que los tratamientos T1, T3 y T5 son estadísticamente iguales de los tratamientos inoculados únicamente con CHMA, con 64,8g, 67,2g y 65,4g estos tratamientos contienen CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y San Cruz respectivamente; los tratamientos que fueron inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra (día 0) de *Plukenetia volubilis* (T6-T10), el tratamiento T8 es el más sobresaliente con 52,3g inoculado con CHMA de Palmiche seguido de los tratamientos T6 y T10 estadísticamente iguales con 45,2g y 47,8g inoculados con CHMA de San Antonio de Rio Mayo y Santa Cruz respectivamente; en los tratamientos que fueron inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 días DDS (T11 – T15) el tratamiento T13 es el más sobresaliente con 60,2g y estadísticamente diferente a los

demás; seguido de los tratamientos estadísticamente iguales T11 y T15 con 56,4g y 57,5g inoculados con CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo y Santa Cruz respectivamente. Los tratamientos T16 y T17 fueron inoculados únicamente con *Meloidogyne incognita* presentan 12,1g y 19,9g respectivamente, y el testigo absoluto T0 tiene un peso promedio de 26,3g. Estos resultados muestran que el efecto de los CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz muestran mejores resultados tanto en los inoculados sólo con CHMA en el momento de la siembra, con CHMA/ *Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra y CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS, además que los resultados sobresalen con respecto a los tratamientos que tuvieron únicamente *Meloidogyne incognita* y el testigo absoluto (T0) que presentan resultados inferiores. Estos resultados muestran que los CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz tienen mejor efecto sobre altura de planta en diferentes escenarios (Inoculados con *M. incognita* en el día 0 y día 60).

Los tratamientos inoculados con CHMA y CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS muestran mejores resultados ratificando el efecto de CHMA para favorecer el incremento peso fresco de biomasa de *Plukenetia volubilis* y se demuestra comparando con los tratamientos que fueron no fueron inoculados con CHMA que presentan menor peso, el proyecto muestra muy buenos resultados con respecto a la biomasa fresca, ya que un plantón de *Plukenetia volubilis* con buen área foliar, cantidad de hojas considerables y buena altura de planta favorece a obtener buen peso fresco de biomasa, demostrando el efecto de los CHMA para mostrar plantones con muy buenas fortalezas, resultados deferentes a Alban *et al.*, (2013) quienes comprobando el efecto antagónico entre los HMA y nematodos (*Meloidogyne exigua*) en el cultivo de café, obtenido resultados semejantes al testigo.

### 3.1.6. Peso seco de parte aérea de plántulas de sachá inchi

La tabla 8 y el gráfico 6 muestran el ANVA y la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para el peso seco de parte aérea de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.

**Tabla 8:**

ANVA del peso seco de biomasa aérea de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.

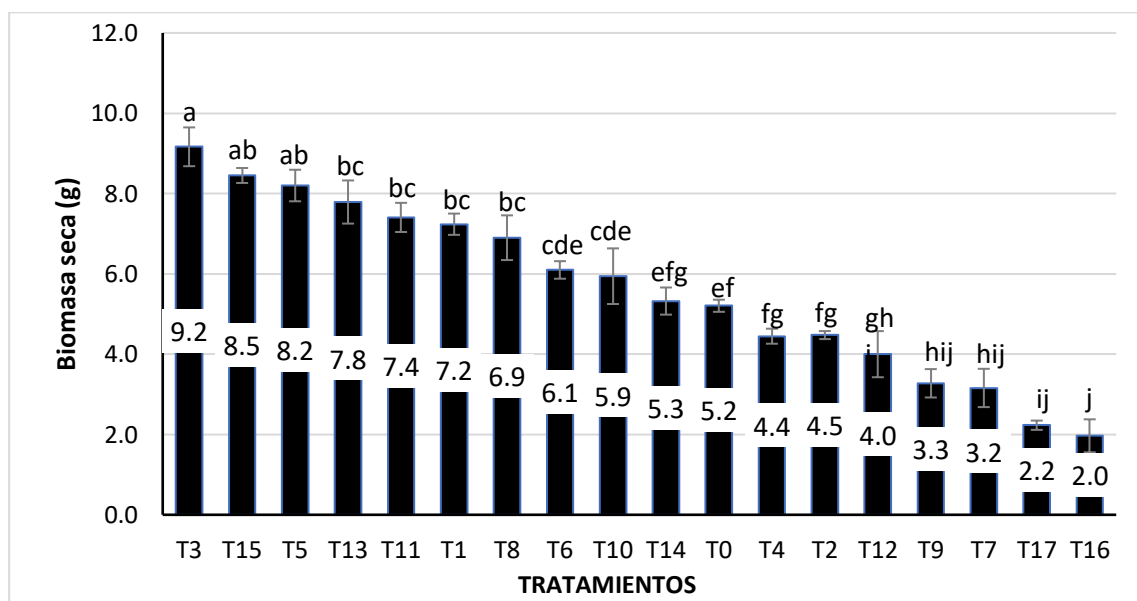
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTOS	243,45	17	14,32	49,83	<0,0001
REPETICIONES	1,45	2	0,72	2,52	0,0953
Error	9,77	34	0,29		
Total	254,67	53			

\*\* = Altamente Significativo

$R^2 = 96\%$

CV = 9,54%

$\bar{X} = 5,6 \text{ g}$



**Gráfico 6:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) del peso seco de biomasa aérea de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a  $T^\circ$  media de  $28^\circ\text{C}$  y HR de 75%.

El análisis de varianza (tabla 8) de peso seco de biomasa de plantones de sachá inchi entre los 18 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 5,6g con un coeficiente de variabilidad de 9,54% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 96%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 6) muestra que el tratamiento T3 (CHMA - Palmiche) es más sobresaliente de los tratamientos que fueron inoculados únicamente con CHMA y estadísticamente diferente con 9,2g, seguido de

los tratamientos T5 y T1 con 8g y 7,2g inoculados con CHMA de San Antonio de Rio Mayo y Santa Cruz; de los tratamientos que fueron inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra (día 0) de *Plukenetia volubilis* (T6 - T10), el tratamiento T8 (CHMA - Palmiche) es el más sobresaliente y estadísticamente diferente con 7,4g seguido de los tratamientos T6 y T10 estadísticamente iguales con 6,1g y 5,9g inoculado con CHMA de San Antonio de Rio mayo y Santa cruz respectivamente; de los tratamientos inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS (T11-T15) el tratamiento resaltante es T15 con 8,5g seguido de los tratamientos T13 y T11 estadísticamente diferentes con 7,8g y 7,4g inoculados con CHMA de las localidades de Palmiche y San Antonio de Rio Mayo respectivamente. Los tratamientos T16 y T17 fueron inoculados con *Meloidogyne incognita* presentan 1,9g y 2,2g respectivamente, mientras el testigo absoluto T0 pesa 5,2g. Estos resultados muestran que el efecto de los tratamientos inoculados con CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz muestran mejores resultados tanto en los inoculados sólo con CHMA en el momento de la siembra, con CHMA/ *Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra y CHMA/ *Meloidogyne incognita* 60 DDS, además que los resultados sobresalen con respecto a los tratamientos que tuvieron sólo *Meloidogyne incognita* y al testigo absoluto T0. Estos resultados muestran que los CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz tienen mejor efecto sobre altura de planta en diferentes escenarios (Inoculados con *M. incognita* en el día 0 y día 60). Estos resultados muestran que los CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz tienen mejor efecto sobre altura de planta en diferentes escenarios (Inoculados con *M. incognita* en el día 0 y día 60).

De los tratamientos inoculados con CHMA (día 0) y CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS muestran mejores resultados ratificando el efecto de CHMA para favorecer el incremento de peso seco de biomasa de *Plukenetia volubilis* y se demuestra comparando con los tratamientos que fueron no fueron inoculados con CHMA que presentan menor peso seco, estos resultados son semejantes a tienen cierta similitud a Chinchay (2016) que obtuvo resultados altamente significativos entre sus tratamientos con peso seco que fluctúan entre 6,26 -7,14 así mismo con cierta similitud a Del Águila (2016) en el efecto de CHMA, con resultados donde se observaron incrementos de la biomasa seca área de

los tratamientos inoculados con HMA que fluctuaron entre 86,52% y 203,37% más que las plantas no inoculadas, siendo esto, otro de los beneficios de la simbiosis con los HMA, ya que incrementa la cantidad de biomasa seca aérea (Abbott y Robson, 1991; Si bien es cierto los incrementos de biomasa seca son altos, estos resultados no son extraños dado que autores como Smith y Read, (1997), citados por Dávila *et al.*, (2009), afirmaron que la presencia de HMA en las raíces del hospedante incrementan su tasa de crecimiento y producción de biomasa .

### 3.2. Variables biológicas

#### 3.2.1. Población de *M. incognita* en suelo y raíces de sachá inchi

La tabla 9 y el gráfico 7 muestran el ANVA y la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para población de *M. incognita* en suelo y raíces de sachá inchi de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.

**Tabla 9:**

*ANVA de la población de *M. incognita* en suelo y raíces de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.*

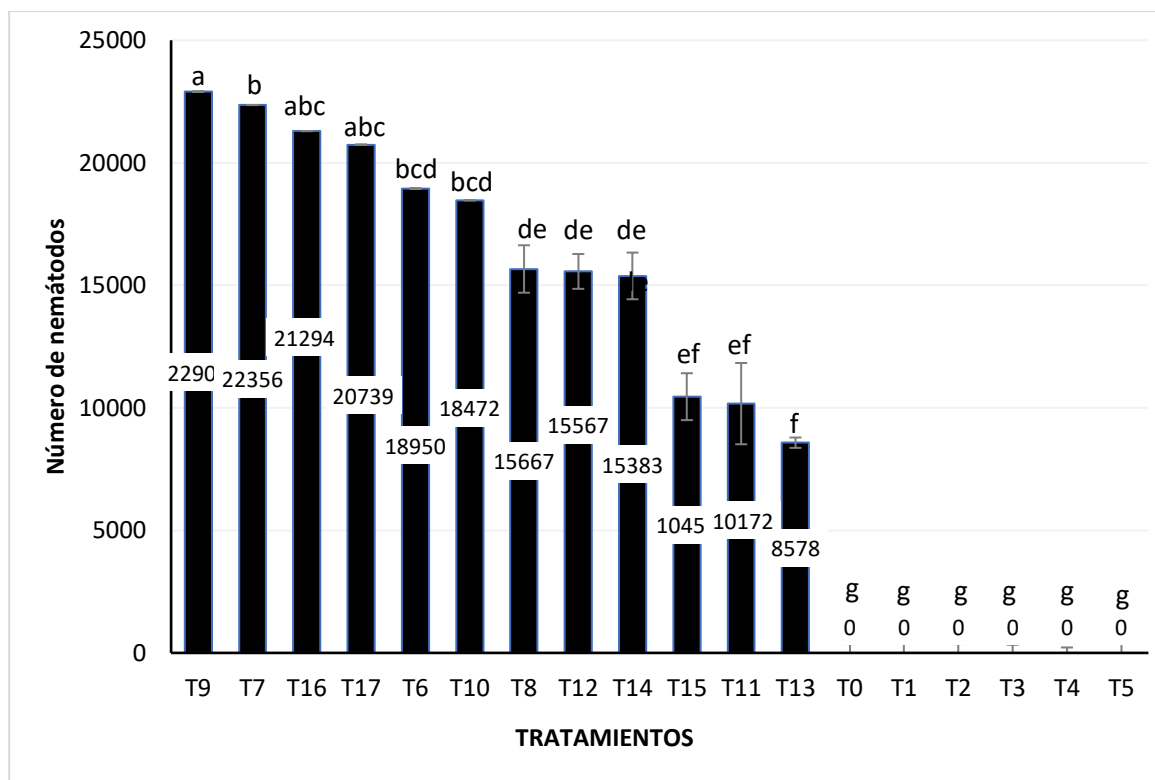
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>TRATAMIENTOS</b>	4575173407	17	269127847	201,47	<0,0001
<b>REPETICIONES</b>	932137,42	2	466068,71	0,35	0,708
<b>Error</b>	45417692,88	34	1335814,5		
<b>Total</b>	4621523237	53			

\*\* = Altamente Significativo

$R^2 = 99\%$

CV = 9,39%

$\bar{X} = 12308$  nemátodos



**Gráfico 7:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) de la población de *M. incognita* en suelo y raíces de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a  $T^{\circ}$  media de  $28^{\circ}\text{C}$  y HR de 75%.

El análisis de varianza (tabla 9) de densidad de nemátodos finales de plantones de sachá inchi entre los 18 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 12 308 nemátodos con un coeficiente de variabilidad de 5,39% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 99%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 7) muestra que los tratamientos T1 al T5, no fueron inoculados con *M. incognita* al igual que el testigo absoluto T0 mostrando “0” como valor numérico en las evaluaciones; los tratamientos que fueron inoculados con CHMA+*M. incognita* en el momento de la siembra (día 0) de *Plukenetia volubilis* (T6 - T10), el tratamiento T9 (CHMA – Huañipo) es el más sobresaliente y estadísticamente diferente con 22 906 nemátodos, seguido del tratamiento T7 (CHMA - Nuevo Progreso) con 22 356, el T8( CHMA - Palmiche) es el tratamiento es el que más toleró el ataque con 15 667 nemátodos, de los tratamientos inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS (T11-T15) los tratamiento resaltantes son el T12 y T14 con 15 567 y 15 383 nemátodos respectivamente y

estadísticamente iguales y son los que mayor efecto tuvo sobre el ataque de *Meloidogyne incognita*; el tratamiento T13 es el tratamiento que mejor toleró con 8 578 nemátodos inoculados con CHMA de las localidades de Palmiche. Los tratamientos T16 y T17 fueron inoculados con *Meloidogyne incognita* presentan 21 294 y 20 736 nemátodos considerando que el T17 fue inoculado con *Meloidogyne incognita* 60 DDS. Estos resultados muestran que el efecto de los tratamientos inoculados con CHMA de las localidades de Nuevo Progreso y Huañipo muestran resultados que indican menor tolerancia a *Meloidogyne incognita* tanto en los inoculados con CHMA *Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra y CHMA/ *Meloidogyne incognita* 60 DDS; en tanto el CHMA de la localidad de Palmiche presenta mejores resultados de tolerancia a *Meloidogyne incognita*. Contrastando los resultados con los tratamientos T16 y T17 se obtuvo que resultados semejantes al T7 y T9, pero es cierto que, tuvieron un mayor grado de infestación de nemátodos (VER GRAFICO 8) y menor volumen de raíces demostrando que el efecto de CHMA sobre *Meloidogyne incognita*.

De los tratamientos inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS muestran mejores resultados con respecto a los tratamientos inoculados CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra (día 0) y tratamientos que no fueron inoculados con CHMA, mostrando el efecto de CHMA en los tratamientos T11 al T15 los cuales fueron inoculados a 60 DDS, es decir, después de que éstos ya presenten colonización mostrando mejor efecto de resistencia para disminuir el daño de *M. incognita* en plántones de sachá inchi, resultado que lo corrobora Lastres *et al.* (2007), quienes afirman que, las larvas suelen encontrar alimento rápidamente porque las hembras ovipositan cerca de las raíces más jóvenes y los exudados de las raíces son reconocidos por los nemátodos, determinando si se trata de una planta hospedera o no, es así que los tratamientos que se inocularon en el día “0” es decir en el momento de la siembra presentan mayor número de nemátodos y mucho más aquellos que sólo fueron inoculados con *M. incognita*.

### 3.2.2. Grado de infestación de *M. incognita* en raíces de sachá inchi

La tabla 10 y el gráfico 8 muestran el ANVA y la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para el grado de infestación de *M. incognita* en raíces de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.

**Tabla 10:**

ANVA del grado de infestación de *M. incognita* en raíces de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.

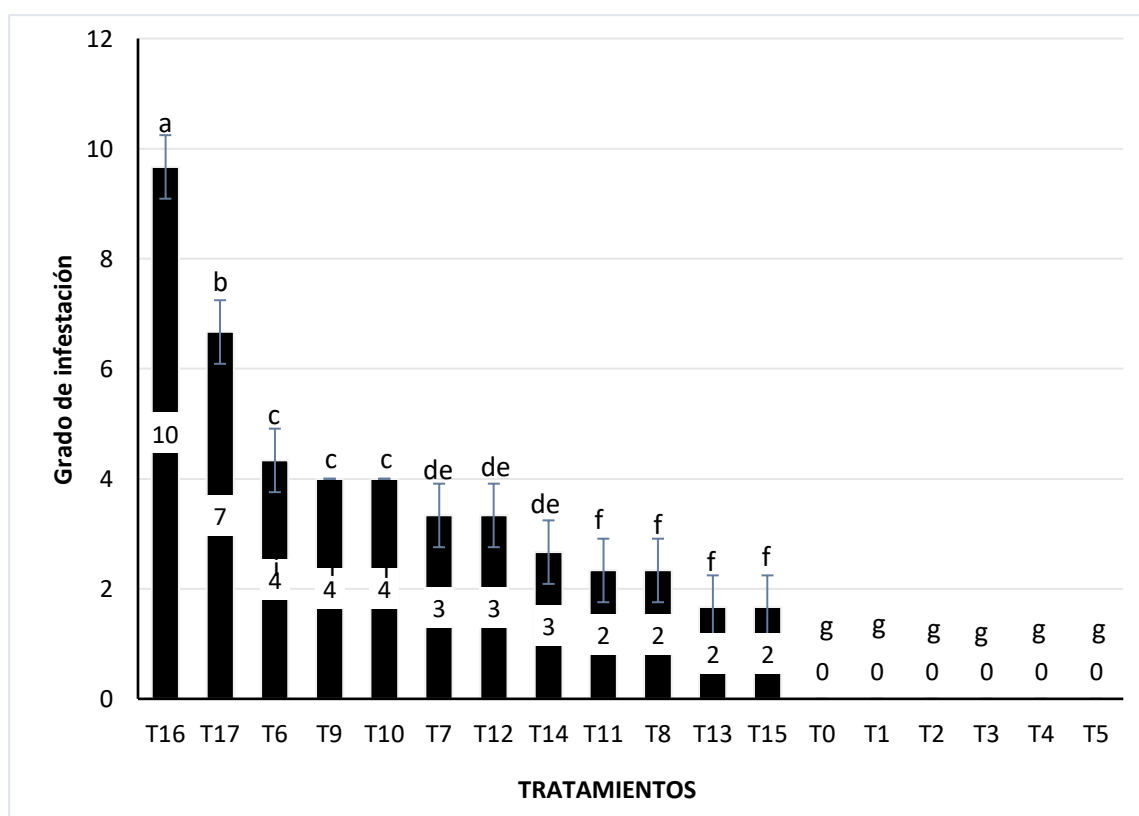
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>TRATAMIENTOS</b>	52,44	17	3,08	149,2	<0,0001
<b>REPETICIONES</b>	0,01	2	0,01	0,25	0,7796
<b>Error</b>	0,7	34	0,02		
<b>Total</b>	53,15	53			

\*\* = Altamente significativo

$R^2 = 99\%$

CV = 7,47%

$\bar{X}$  = Grado 3



**Gráfico 8:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) del grado de infestación causado por *M. incognita* en raíces de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a  $T^{\circ}$  media de  $28^{\circ}\text{C}$  y HR de 75%.



El análisis de varianza (tabla 10) del grado de infestación de nemátodos en raíces de plántones de *sacha inchi* de plántones de *sacha inchi* entre los 18 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 3 (grado de infestación) con un coeficiente de variabilidad de 7,47% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 99%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 8) muestra que los tratamientos T1 – T5, no fueron inoculados con *Meloidogyne incognita* al igual que el testigo absoluto T0 mostrando 0 como grado de infestación; los tratamientos que fueron inoculados con CHMA/ *Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra de *Plukenetia volubilis* (T6 - T10), los tratamientos T6, T9 Y T10 estadísticamente iguales con grado de infestación 4, inoculados con CHMA de San Antonio de Rio Mayo, Huañipo y Santa Cruz, el T8 es el tratamiento que más toleró el ataque de *Meloidogyne incognita* con un grado de infestación 2, inoculado con CHMA de Palmiche; de los tratamientos inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 días DDS (T11-T15) los tratamientos T12 y T14 son estadísticamente iguales con grado de infestación 4 inoculados con CHMA de las localidades de Nuevo Progreso y Huañipo y los tratamientos T11, T13 Y T15 son estadísticamente iguales con grado de infestación 2, siendo los tratamientos con mayor tolerancia sobre los cuales hubo menor efecto sobre el ataque de *Meloidogyne incognita*. Los tratamientos T16 y T17 fueron inoculados con *Meloidogyne incognita* son estadísticamente diferentes con grado de infestación de 10 y 7 respectivamente. Estos resultados muestran que el efecto de los tratamientos inoculados 60 DDS muestran mejores resultados de tolerancia a *Meloidogyne incognita* (T13 y T15), pero los tratamientos T16 y T17 indican menor tolerancia a *Meloidogyne incognita* mostrando los mayores grados de infestación con respecto a los inoculados con CHMA, demostrando el efecto de CHMA sobre la dinámica de *Meloidogyne incognita* en raíces de plántones de *sacha inchi* (*Plukenetia volubilis* L.)

Los tratamientos inoculados con CHMA/ *Meloidogyne incognita* 60 DDS (T13 Y T15) muestran mejores resultados con respecto a los tratamientos inoculados CHMA/ *Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra y tratamientos que no fueron

inoculados con CHMA, mostrando el efecto de CHMA mostrando mejor efecto de resistencia para disminuir el daño de *M. incognita* en plantones de sachá inchi; también se observa que los tratamientos T16 Y T17 muestran mayor grado de infestación pues se debe a que éstos fueron inoculados únicamente con *Meloidogyne incognita* mostrando gran daño y demostrando el efecto de los CHMA. Agrios (1995), menciona que: las plantas afectadas a menudo sobreviven durante el transcurso de la estación de crecimiento y rara vez son destruidas prematuramente por la enfermedad.

### 3.2.3. Determinación de la longitud de micelio extrarradical en suelo de macetas de sachá inchi

La tabla 11 y el gráfico 9 muestran el ANVA y la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para determinación de la longitud de micelio extrarradical en suelo de macetas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.

**Tabla 11:**

*ANVA de determinación de la longitud de micelio extrarradical en suelo de macetas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.*

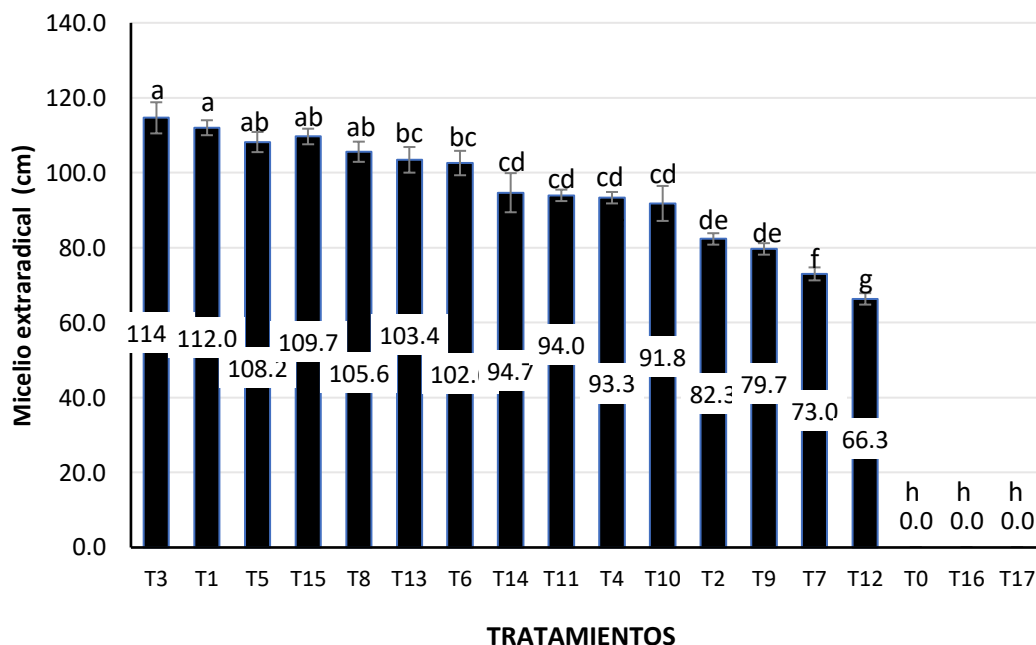
<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>TRATAMIENTOS</b>	5905,04	17	347,36	328,4	<0,0001
<b>REPETICIONES</b>	8,04	2	4,02	3,8	0,0324
<b>Error</b>	35,96	34	1,06		
<b>Total</b>	5949,04	53			

\*\* = Altamente Significativo

$R^2 = 99\%$

CV = 5,91%

$\bar{X} = 17,4 \text{ cm}$



**Gráfico 9:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) de determinación de la longitud de micelio extraradical en suelo de macetas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a  $T^{\circ}$  media de  $28^{\circ}\text{C}$  y HR de 75%.

El análisis de varianza (tabla 11) de determinación de micelio extraradical de sustrato de plántulas de sachá inchi entre los 18 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 67,7 cm con un coeficiente de variabilidad de 5,91% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 99%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 9) muestra que los tratamientos T1 y T3 son los más sobresalientes de los tratamientos y estadísticamente iguales que fueron inoculados únicamente con CHMA con 112 cm y 114,6 cm, estos tratamientos contienen CHMA de la localidad de San Antonio de Río Mayo y Palmiche, seguido del tratamiento T5 con 108,2 inoculado con CHMA de San Santa Cruz; de los tratamientos que fueron inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra (día 0) de *Plukenetia volubilis* (T6 - T10), el tratamiento T8 es el más sobresaliente y estadísticamente diferente con 105,6 cm inoculado con CHMA de Palmiche, seguido de los tratamientos T6 y T10 estadísticamente diferentes con 102,6 cm y 91,8 cm inoculado con CHMA de San Antonio de Río Mayo y Santa

cruz respectivamente; de los tratamientos inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 días DDS (T11-T15) el tratamiento resaltante es T15 con 109,7 cm seguido de los tratamientos T13 y T11 estadísticamente diferentes con 103,4 cm y 94 cm inoculados con CHMA de las localidades de Palmiche y San Antonio de Rio Mayo respectivamente. Los tratamientos T16 y T17 no fueron inoculados con CHMA al igual que el T0. Los siguientes resultados muestran que las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz muestran mejores resultados en los inoculados sólo con CHMA en el momento de la siembra, con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra y CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS. Los mejores resultados muestran los tratamientos que sólo fueron inoculados con CHMA.

Los tratamientos inoculados con CHMA y CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS muestran mejores resultados ratificando el efecto de CHMA para favorecer el incremento MER en muestras de sustrato de plántones de *Plukenetia volubilis* y se demuestra comparando con los tratamientos que fueron o no fueron inoculados con CHMA no presentan MER, resultados semejantes a Chinchay (2016) que obtuvo resultados altamente significativos ya que el efecto de los CHMA obtuvo buenos resultados entre 38.2 cm - 168.5 cm de MER. De manera similar presenta Del Águila (2016) logrando alcanzar hasta 148,72 cm en el tratamiento T9. Así mismo se observó que la longitud de micelio extrarradicular de los HMA nativos tuvo diferencias significativas en comparación con el tratamiento testigo. Luego de haber ocurrido la colonización de la raíz, se desarrolla en el suelo una red de micelio que constituye la fase extraradical de la simbiosis, la principal responsable de la absorción de nutrientes minerales cedidos a la planta (Smith y Read, 2008). diferentes a lo encontrado en otros cultivos a nivel de campo por Robles (2009) quien realizando muestreos de suelo en 4 épocas (Julio, Octubre, Enero y Abril) encontró que la longitud del MER entre las especies de *Agave* fueron significativamente altas hace referencia que los miembros de la familia Glomeraceae pueden colonizar intensivamente las raíces de las plantas, sin embargo, la densidad de hifas en el suelo llegan a ser muy bajas.

### 3.2.4. Determinación de porcentaje de colonización micorrízica en raíces de plántulas de sachá inchi

La tabla 12 y el gráfico 10 muestran el ANVA y la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para determinación de porcentaje de colonización micorrízica en raíces de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.

**Tabla 12:**

*ANVA de determinación de porcentaje de colonización micorrízica en raíces de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.*

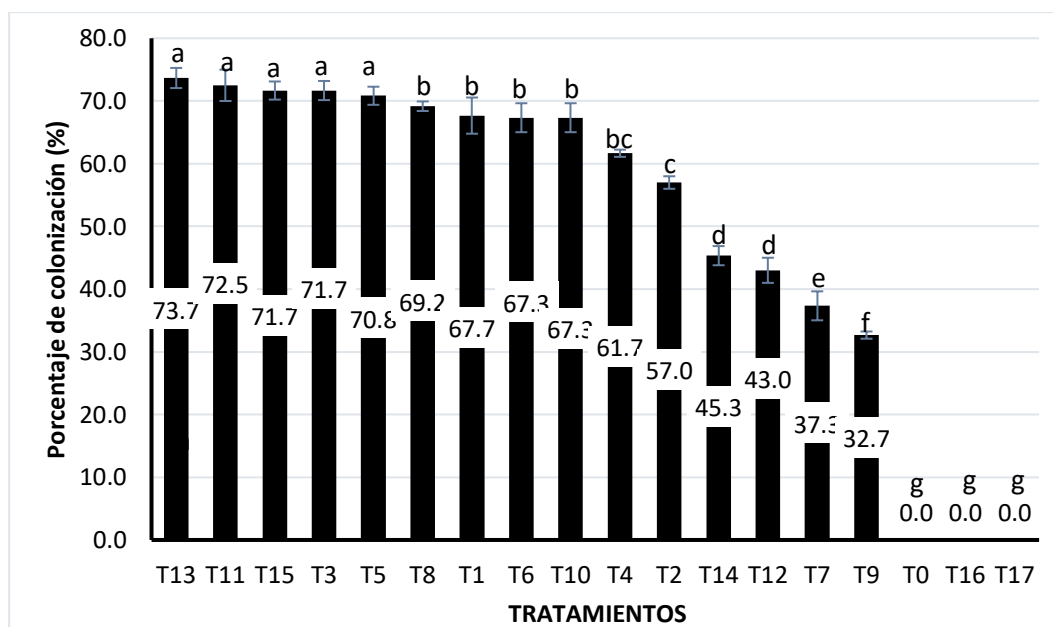
F.V.	SC	GI	CM	F	p-valor
<b>TRATAMIENTOS</b>	36869	17	2168,8	607,73	<0,0001
<b>REPETICIONES</b>	9,33	2	4,67	1,31	0,2837
<b>Error</b>	121,33	34	3,57		
<b>Total</b>	36999	53			

\*\* = Altamente Significativo

$R^2 = 99\%$

CV = 3,86%

$\bar{X} = 48,9\%$



**Gráfico 10:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) de determinación de porcentaje de colonización micorrízica en raíces de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a  $T^\circ$  media de  $28^\circ\text{C}$  y HR de 75%.

El análisis de varianza (tabla 12) de porcentaje de colonización micorrízica en raíces de plantones de sachá inchi entre los 18 tratamientos, indica que existen diferencias

altamente significativas, mostrando una media de 48,9% con un coeficiente de variabilidad de 3,86% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 99%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 10) muestra que los tratamientos T3, T5 y T1, son los más sobresaliente de los tratamientos y estadísticamente iguales que fueron inoculados sólo con CHMA, con 78,7%, 75,2%, y 75,% estos tratamientos contienen CHMA de la localidad de Palmiche, San Antonio de Rio Mayo y Santa Cruz; los tratamientos que fueron inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra de *Plukenetia volubilis* (T6 - T10), los tratamientos T8, T10 y T6, son los más sobresaliente de los tratamientos y estadísticamente con 66,4,7%, 64,8%, y 63,7% estos tratamientos contienen CHMA de la localidad de Palmiche, San Antonio de Rio Mayo y Santa Cruz; de los tratamientos inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS (T11-T15) ), los tratamientos T13, T15 y T11, son los más sobresaliente de los tratamientos y estadísticamente iguales con 72,5,7%, 71,5%, y 70,7% estos tratamientos contienen CHMA de la localidad de Palmiche, San Antonio de Rio Mayo y Santa Cruz. Los tratamientos T16 y T17 no fueron inoculados con CHMA al igual que el T0. Los siguientes resultados muestran que las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz muestran mejores resultados en los inoculados sólo con CHMA en el momento de la siembra, con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra y CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS. Los mejores resultados muestran los tratamientos que sólo fueron inoculados con CHMA con respecto a los demás tratamientos.

Los tratamientos inoculados con CHMA y CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS muestran mejores resultados ratificando el efecto de CHMA para favorecer el incremento porcentaje de colonización de raíces de *Plukenetia volubilis* y se demuestra comparando con los tratamientos que no fueron inoculados con CHMA no presentan colonización, resultados semejante a Chinchay (2016) que obtuvo resultados con alta significancia de los tratamientos inoculados con HMA - N evaluados a los 90 días de haberse realizado la inoculación obteniendo 29.3% de colonización inóculos de HMA nativos e inóculo de *Meloidogyne* spp. Los

resultados reflejados en esta variable tienen cierta similitud con lo encontrado por Carbajal, (2009) quien también obtuvo una buena respuesta en porcentaje de colonización (53.3%) por parte de los HMA nativos en respuesta al nematodo *Meloidogyne incognita* en el cultivo de *Hypericum* bajo condiciones de vivero, siendo en un principio inoculados con HMA y después de cuatro meses infestadas con nematodos; semejante a ello Alban *et al.*, (2013) trabajando con plantas de café a nivel de vivero, encontraron que hubo un gran efecto por parte de los HMA en el control del nematodo *Meloidogyne exigua*, ya que el mayor porcentaje de colonización (52.6%). De manera similar presenta Del águila (2016) donde porcentaje de colonización de las plantas inoculadas con HMA-N en los diferentes tratamientos fluctuó entre 13,83% y 30%. Escalona (2002) encontró resultados similares en café con valores de porcentaje de colonización en vivero que fluctuaron de 23,6% a 42,96% en plantas inoculadas con HMA. Así mismo Rivera *et al.*, (1997) reportó resultados entre 21% y 54% de colonización de HMA también en plantas de cafeto en la etapa de vivero.

### 3.2.5. Densidad de esporas finales en el suelo de macetas de sachá inchi

La tabla 13 y el gráfico 11 muestran el ANVA y la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para densidad de esporas finales en el suelo de macetas de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero.

**Tabla 13:**

*ANVA de la densidad de esporas finales en el suelo de macetas de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero*

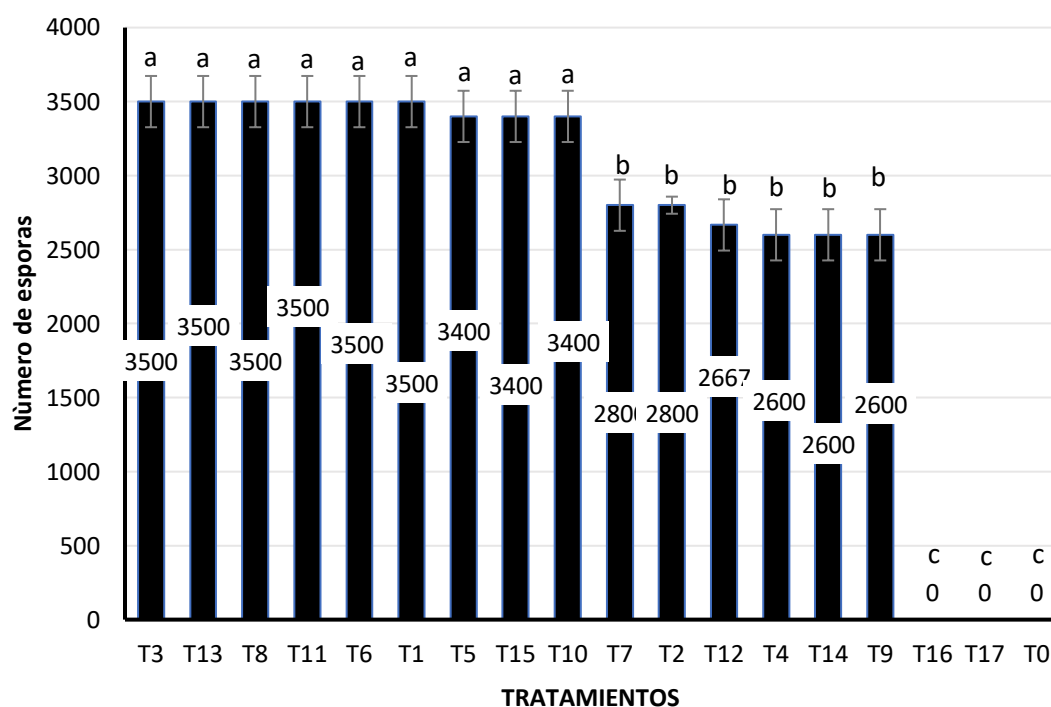
<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>TRATAMIENTOS</b>	81255000	17	4779705,	386,93	<0,0001
			88		
<b>REPETICIONES</b>	840000	2	420000	34	<0,0001
<b>Error</b>	420000	34	12352,94		
<b>Total</b>	82515000	53			

\*\* = Altamente Significativo

$R^2 = 99\%$

CV = 4,25%

$\bar{X} = 2617$  esporas



**Gráfico 11:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) de densidad de esporas finales en el suelo de plántulas de sachá inchi evaluados a 105 días en condiciones de vivero, a  $T^{\circ}$  media de  $28^{\circ}\text{C}$  y HR de 75%.

El análisis de varianza (tabla 13) de densidad de esporas finales en el sustrato de plantones de sachá inchi entre los 18 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 2617 cm con un coeficiente de variabilidad de 4,25% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 99%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 11) muestra que los tratamientos T1, T3 y T5 son los más sobresaliente y estadísticamente iguales con 3500, 3500 y 3400 fueron inoculados sólo con CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo y Palmiche y Santa Cruz, seguido de los tratamientos T2 y T4 estadísticamente iguales con 2700 y 2600 esporas, inoculados con CHMA de las localidades de Nuevo Progreso y Huañipo; de los tratamientos inoculados con CHMA/*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra de *P. volubilis* (T6 - T10), los tratamientos T6, T8 y T10 son los más sobresaliente y estadísticamente iguales con 3500, 3500 y 3400 con CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo y Palmiche y Santa Cruz, seguido de los tratamientos T7 y T9 estadísticamente iguales con 2700 y 2600 esporas, inoculados con CHMA de las localidades de Nuevo



Progreso y Huañipo respectivamente; de los tratamientos inoculados con CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 días DDS (T11-T15) los tratamientos T11, T13 y T15 son los más sobresaliente y estadísticamente iguales con 3500, 3500 y 3400 con CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo y Palmiche y Santa Cruz, seguido de los tratamientos T12 y T14 estadísticamente iguales con 2700 y 2600 esporas, inoculados con CHMA de las localidades de Nuevo Progreso y Huañipo respectivamente. Los tratamientos T16 y T17 no fueron inoculados con CHMA al igual que el T0. Los siguientes resultados muestran que las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz muestran mejores resultados en los inoculados sólo con CHMA en el momento de la siembra, con CHMA+*Meloidogyne incognita* en el momento de la siembra y CHMA+*M. incognita* 60 DDS y los tratamientos inoculados con CHMA de las localidades de Nuevo Progreso y Huañipo presentan resultados inferiores a las localidades antes mencionados. Y se nota un incremento en el número de esporas finales con respecto a la inoculación, mostrando características favorables para la multiplicación de HMA nativos en el cultivo Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.).

Los tratamientos inoculados con CHMA y CHMA+*Meloidogyne incognita* 60 DDS muestran mejores resultados ratificando el efecto de CHMA para favorecer la multiplicación de esporas de los CHMA se demuestra en el Gráfico 12 donde se observa que se multiplicaron aumentados en un 50% - 75% de su población inicial (2000 esporas). Del Águila (2016) muestra la abundancia de las esporas de HMA-N, se vio favorecida en todos los consorcios micorrízicos, llegando a fluctuar entre 587 y 1547 esporas/10g, resultados similares a los encontrados por Zangaro, *et al.*, (2012), quienes reportaron valores entre 400 y 800 esporas/10g de suelo. Es importante agregar que esta etapa es crucial en trabajos de inoculación con HMA-N, ya que de esta manera se promueve la adaptación y prevalencia frente a otros microorganismos no deseados, debido a que las esporas son las principales responsables de perpetuar su especie (Barea *et al.*, 1991).

### 3.3. Variables ecológicas

#### 4.3.1. Identificación de especies de HMA de la fuente inóculo de cada localidad

**Tabla 13.**

*Relación de especies de HMA encontradas en las fuentes de inóculo de las localidades estudiadas*

ESPECIES DE HMA/10g DE SUELO	LOCALIDADES				
	S.A de Rio Mayo	Nuevo Progreso	Palmiche	Huañipo	Santa Cruz
<i>Septoglumus constrictum</i>	0	12	9	0	0
<i>Glomus sp.</i>	15	0	12	0	20
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	0	0	0	9	8
<i>Acaulospora spinosissima</i>	4	0	14	0	0
<i>Glomus sp 2</i>	0	0	0	6	0
<i>Glomus microcarpum</i>	15	0	22	0	15
<i>Diversispora versiformis</i>	0	0	0	0	12
<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	16	0	14	0	17
<i>Funneliformis geosporum</i>	0	15	0	0	12
<i>Glomus macrocarpum</i>	16	0	18	0	18
<i>Claroideoglomus sp.</i>	14	30	2	0	0
<i>Glomus brohultii</i>	10	0	1	12	0
<i>Rhizoglomus sp.</i>	10	18	0	12	0
NÚMERO DE ESPECIES	8	4	8	4	7

Fuente: Elaboración propia.

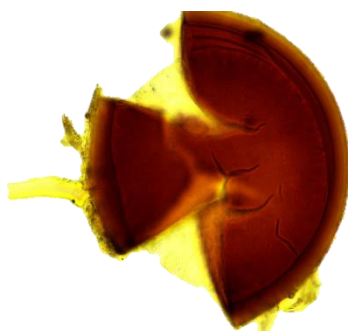
Las especies presentes en el cuadro 15, corresponden a las cinco localidades tomadas como fuente inóculo de CHMA en el proyecto de investigación, obteniendo que las especies de la localidad de San Antonio de Rio Mayo son 8 de las cuales *Glomus sp.*, *Glomus microcarpum*, *Glomus macrocarpum*, *Claroideoglomus etunicatum*, *Claroideoglomus sp.* Y *Rhizoglomus sp.* presentan en mayor cantidad; los CHMA de la localidad de Nuevo Progreso presenta 4 especies como *Septoglumus constrictum*, *Funneliformis geosporum*, *Claroideoglomus sp* y *Rhizoglomus sp*; mientras que los CHMA de palmiche presenta 8 especies de HMA de los cuales los más numerosos son *Glomus sp.*, *Glomus microcarpum*, *Glomus macrocarpum* y *Claroideoglomus etunicatum*; mientras Huañipo presenta 4 especies de HMA entre ellas las representativas como *Glomus brohultii* y *Rhizoglomus sp.*; finalmente Santa Cruz presenta 7 especies de HMA entre los más representativos *Glomus sp.*, *Glomus microcarpum*, *Claroideoglomus etunicatum* y *Glomus macrocarpum*. Interesantemente los CHMA identificados de las localidades San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz presentan mayores resultados en las variables evaluadas, así mismo también prevalecen con la mayor diversidad de especies 8, 8 y 7 respectivamente, siendo estos CHMA quienes contaron con

4 especies distintamente de los demás como son: *Glomus* sp., *Glomus microcarpum*, *Glomus macrocarpum* y *Claroideoglomus etunicatum*; éstas especies estén favoreciendo probablemente al cultivo de sachá inchi y mostrando resultados resaltantes en el experimento.

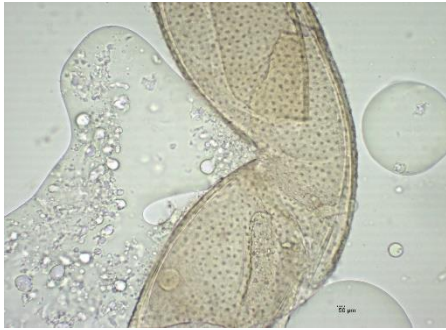
Comparando estos resultados con los resultados de Becerra (2016), se obtuvo que, al inicio de la multiplicación, se identificaron 11 especies de HMA-N. Dichas especies estuvieron agrupadas según se encontraron en cada fuente de inóculo, sin embargo; es importante aclarar que es muy probable que, durante el proceso de la multiplicación de estos microorganismos, cada una de estas haya evolucionado de distinta forma, puesto que por ejemplo aquellas especies del orden Glomerales tales como *Glomus brohultii*, *Claroideoglomus claroideum*, *Claroideoglomus etunicatum*, y *Funneliformis mosseae*, en comparación con las especies del orden Diversisporales como *Acaulospora denticulata*, *Acaulospora laevis*, *Acaulospora mellea* y *Acaulospora scrobiculata*, presentan una colonización más rápida por tener su ciclo de vida más corto, el mismo que, de acuerdo a la metodología utilizada para la multiplicación en esta investigación (periodo de 80 días), se pudo haber completado hasta en tres oportunidades, mientras que las segundas, por tener un ciclo de vida de 12 meses aproximadamente, sus incrementos en número de esporas pudieron haber sido poco representativos; en consecuencia la riqueza de las especies de HMA-N presentes en cada consorcio, pudo haberse visto afectada, opinión concedida por Carballar, entrevista personal 28 de marzo de 2016.

### 3.3.2. Especies de HMA de la fuente inóculo de cada localidad.



*Claroideoglomus sp**Glomus brohultii**Glomus sp 2**Glomus macrocarpum**Diversispora versisformis**Glomus microcarpum**Acaulospora spinosissima**Funneliformis geosporum*

*Acaulospora scrobiculata*



*Claroideoglossum etunicatum*



*Septoglossum constrictum*



## CONCLUSIONES

- Los tratamientos que mostraron mejor respuesta ante la variable grado de infestación son los tratamientos T13 (CHMA de Palmiche) y T15 (CHMA de Santa Cruz) mostrando un grado 2, éstos fueron inoculados con *M. incognita* 60 días después de la siembra; así mismo de los tratamientos que mostraron mejor resultado ante la variable porcentaje de colonización micorrízica son T11 (CHMA de San Antonio de Rio Mayo), T13 (CHMA de Palmiche) y T15 (CHMA de Santa Cruz) con 71,5%, 72,5% y 70,7% iguales estadísticamente y con alta significancia.
- La sintomatología observada en las evaluaciones se obtiene que los tratamientos que mostraron mejor respuesta son T11, T13 y T15, para todas las variables evaluadas. Estos fueron inoculados con CHMA de las localidades de San Antonio de Rio Mayo, Palmiche y Santa Cruz respectivamente, así mismo inoculados con *M. incognita* 60 días después de la siembra.
- Se identificó 13 especies de las fuentes de inóculo de 5 las localidades, teniendo especies representativas como: *Glomus* sp., *Glomus microcarpum*, *Glomus macrocarpum* y *Claroideoglomus etunicatum* quienes obtuvieron mayor densidad.

## RECOMENDACIONES

- Utilizar fuente de inóculo de las localidades de San Antonio de Rio Mayo (Provincia de Lamas), Palmiche (Provincia de Lamas) y Santa Cruz (Provincia de El Dorado), ya que mostraron mayor diversidad de especies de HMA y mejor efecto ante la dinámica poblacional de *M. incognita* en plántulas de sachá inchi.
- A partir de los datos obtenidos y observando que *Meloidogyne incognita* tuvo menor ataque e infestación en las plántulas de sachá inchi inoculados 60 días después de la siembra, se recomienda aplicar CHMA arbusculares en el momento de la siembra y mantener en condiciones de vivero aproximadamente 105 días para asegurar alta colonización al momento de llevar a campo definitivo.
- Realizar ensayos en campo definitivo con las fuentes de inóculo de CHMA de las localidades ya mencionadas para determinar su efecto que podrían tener en otras condiciones, se sabe que en campo definitivo las condiciones son muy adversas. Además de que la planta al salir campo debe contar con un sistema biológico que le permita una mejor adaptación en el nuevo hábitat.

## REFERENCIAS

- Abbott, L.; Robson, A. (1991). *Factors influencing the occurrence of vesicular arbuscular mycorrhizas*. Agri, Ecosyst Environment 36: 121-150.
- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*. 5th Edition. Elsevier Inc. All rights reserved. Printed in the United States of America. 948 pp.
- Albán, R. (2013). *Interactions between a Root Knot Nematode (Meloidogyne exigua) and Arbuscular Mycorrhizae in Coffee Plant Development (Coffea arabica)*. American Journal of Plant Sciences, 2013, 4, 19-23
- Álvarez, S.; Ferrera, C. (2006). *Micorriza arbuscular y crecimiento del café en vivero*. El cafetal del futuro, realidades y visiones: 19-22. Shaker Verlag, Aachen, Alemania.
- Arévalo, G. (2005). *Informes de Resultados de Investigación. Programa Nacional de Investigación en Recursos Genéticos y Biotecnología*. E.E. “El Porvenir”. Años 1989 – 1995.
- Arguello, M.; Rueda, F. (2007). “*M.I.P de Cucurbitaceas*”. Pág. 30 – 40; 1º Edición; Costa Rica 2007.
- Augé, R. (2001). *Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis*. Mycorrhiza. 11:3–42.
- Azcon, C.; Palenzuela, J.; Roldan, A.; Bautista, S.; Vallejo R.; Barea, J. (2003) *Analysis of the mycorrhizal potential in the rhizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrublands*. Appl. Soil Ecol. 22: 29-37.
- Azcon, C. (2000). *El micelio externo de la micorriza arbuscular como Puente simbiótico entre la raíz y su entorno*. En: *Ecología, Fisiología y Biotecnología de la micorriza arbuscular*. Eds. Mundi Prensa México, S.A. de C.V. 78-92
- Barea, J. (1991). *Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility*. Soil Sci. 15:1-40.



- Barea, J.; Azcón, C.; Ocampo J., Azcón R. (1991). *Morfología, anatomía y citología de las micorrizas vesículo-arbusculares*. Madrid.
- Barea, M. (2003). *Las micorrizas arbusculares componente clave en la productividad y estabilidad de agroecosistemas*. Departamento de Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos, Estación Experimental del Zaidín, Granada, España, 2003, 50 p.
- Bird, D.; Opperman, C., Williamson, V. (2008). *La infección de la planta por nematodo del nudo*. En: Berg RH, Taylor CG (eds) *la biología de la célula del parasitismo planta nematodos*. Springer Verlag, Berlin, pp 1 – 13.
- Bonfante, P.; Gripiolo R. (1984). *Cytochemical and biochemical observations on the cell wall of the spore of Glomus epigaeum*. Protoplasma 123: 140-151.
- Brack, A. (1999) *Plukenetia volubilis L. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú*. PNUD. Cuzco – Perú. 550 p.
- Brundrett, M. (1991). *Working with mycorrhizas in forestry and agriculture*. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR). Monografía 32. Canberra, Australia.
- Bucher, M. (2006). *Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces*. New Phytologist 173: 11-26.
- Caillaud, M.; Dubreuil, G.; Quentin, M.; Perfus, L.; Lecomte, P.; de Almeida, E., Abad, P., Rosso, M., Favery, B. (2008) *Nematodos de la raíz manipulan las funciones celulares de las plantas durante una interacción compatible*. J Plant Physiol 165: 104 - 113
- Camprubí, A.; Estaún, V. (2000) *Micorrizas arbusculares en producción agrícola. Horticultura*. Abril. España. 96
- Carbajal, E. (2009). *Colonización Micorrízica por Hongos Vesículo Arbusculares en Hypericum, y Control del Nematodo Nodulador Meloidogyne Incognita*. Escuela Politécnica del Ejército. Sangolquí, Ecuador. 148 pp.

- Cavagnaro, T.; Gao L.; Smith, A., y Smith, S. (2001) *Morphology of arbuscular mycorrhizas is influenced by fungal identity*. New Phytologist.
- Chaurasia, B.; Pandey, A.; Palni, L. 2005. *Distribution, colonization and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with central Himalayan rhododendrons*. For. Ecol. Manag. 207: 315–324.
- Chinchay, D. O. (2016). *Efecto de Hongos Micorrízicos Arbusculares nativos sobre el nematodo agallador de raíces (Meloidogyne spp.) en plántones de café (Coffea arabica) variedad caturra en la Región San Martín*. Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto.
- Christie, J. (1974). *Nemátodos de los Vegetales, su ecología y control*. Departamento de Entomología. Editorial Limusa; La Florida – Estados Unidos 1974.
- Coolen, W. (1979) *Methods for the extracción of Meloidogyne spp and other nematodes from roots and soil*. pp. 317-329. In: Root knot nematodes (Meloidogyne spp) Systematics Biology and Control (Lamberti, F and Taylor, C. E., eds.) Academic Press, London.
- Cuadros, G.; Gómez, R.; Rodríguez, N. (2011). *Asociación simbiótica entre hongos micorrízicos arbusculares y el sistema radicular de plántulas de cacao (Theobroma cacao L.): efecto de la formononetina y la disponibilidad de fósforo en el suelo*. Universidad Industrial de Santander (UIS). Bucaramanga, Colombia. 9 pp.
- Curtis, R.; Robinson, A.; Perry, R. (2009) *Hatch y anfitrión ubicación*. En: Perry RN, Moens M, Starr JL (eds) *nematodos de la raíz*. CAB International, Wallingford, pp 139 - 162
- Dávila, R.; Ramos, F.; Rosales, M. (2009). *Multiplicación de hongos micorrizicos arbusculares nativos de cultivo de cacao (Theobroma cacao) en maíz (Zea mays) bajo distintos tratamientos agronómicos*. Valledupar. España.
- Dandan, Z; Zhiwei, Z; (2007) *Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the hot-dry valley of the Jinsha River, southwest China*. Appl. Soil Ecol. 37:118 – 128.

- Del águila, K.M. (2016). *Efecto de Hongos Micorrízicos Arbusculares nativos sobre el nematodo agallador de raíces (Meloidogyne spp.) en plántones de café (Coffea arabica) variedad caturra en la Región San Martín*. Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto- Perú
- DRASAM. (2005) *Evaluación de parcelas de Sacha Inchi*. Dirección Regional de San Martín.
- DRASAM. (2016). *Diagnóstico de la cadena de valor del cultivo de sachá inchi*. Dirección de Productividad Agraria - DPA Dirección Regional de Agricultura San Martín.
- Elsen, A.; Gervacio, D.; Swennen, R.; de Waele, D. (2008) *AMF-indujeron biocontrol contra nematodos parásitos de plantas en Musa sp.: Un efecto sistémico*. Micorrizas 18: 251 - 256
- Franco, N. (2008). *Efectos beneficiosos de las micorrizas sobre las plantas*. Universidad de Sevilla. Disponible en Página Web: [www.bioscripts.net](http://www.bioscripts.net).
- Franken, P.; Donge, K.; Grunwald, U.; Kost, G.; Karl-Heinz, R.; Tamasloukht, M.; Waschke, H. y Zeuske, A. (2007). *Gene expression analysis of arbuscule development and functioning*. *Phytochemistry*, 68(1): 68-74.
- Gelpud, C.; Mora, E., Salazar, C.; Betancourt C. (2011). *Susceptibilidad de genotipos de Solanum spp. al nematodo causante del nudo radical Meloidogyne spp.* Universidad Nacional de Colombia (UNAL). Bogotá, Colombia. 19 pp.
- Gerdemann, J., Nicolson, T. (1963) *Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting*, Transactions of the British mycological Society, vol. 46, pp. 235
- Gerdemann, J., Trappe, J. (1974) *Endogonaceae in the Pacific Northwest*, Mycologia Memoir, vol. 5, pp. 1–76
- Gillespie, L. (1993). *A synopsis of neotropical Plukenetia (Euphorbiaceae) including two new species*. *Systematic Botany* 18 (4): 575 – 592.

- Giovannetti, M.; Gianinazzi, V. (1994) *Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi. Review Mycology Research*. 98 (7): 705-715.
- Grace, C.; Stribley, D. (1991) *A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular. Mycorrhizal fungi. Mycological Research* 95: 1160-1162.
- Guachón, T.; Prado, M.; Lucero, H; (2012). *Evaluación del efecto del inóculo Micorrízico arbuscular en el crecimiento de Cinchona pubescens y Cinchona officinalis en condiciones de vivero*. Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL). Loja, Ecuador. 86 pp.
- Gutjahr, C.; Gobbato, E.; Choi, J.; Riemann, M.; Johnston, M.; Summers, W.; Nadal, M. (2015). *Percepción del arroz de simbiótica de hongos micorrízicos arbusculares requiere el complejo receptor Karrikina* . *Ciencia* 350 : 1521 - 1524 .
- Hamaker, B.; Valles, C.; Gilman, R.; Hardmeier, R.; Clark, D.; García, H.; Gonzales, A.; Kohlsted, I.; Castro, M.; Valdivia, R.; Rodríguez, T.; Lescano, M. (1992). *Amino acid and fatty acid profiles of the inca peanut (Plukenetia volubilis L.)*. *Cereal Chemistry*. 69 (4): 461-463.
- Harley, J. (1971) *Fungi in Ecosystems. The Journal of Ecology*, 59(3): 653- 668.
- Harrison, M. (1997). *The arbuscular mycorrhizal symbiosis: An underground association. Review. Elsevier Trends Journal*. 2(2): 54-60.
- Harrison, M. (2005). *Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Annual Review of Microbiology*.
- Hart, M.; Reader, R. (2002). *Taxonomic basic for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist*, 153 (2): 335-334.
- Helgason, T., Fitter, A. (2009). *Natural selection and the evolutionary ecology of the arbuscular mycorrhizal fungi (Phylum Glomeromycota)*. *Journal of experimental botany*: 1-16.
- Hernández, C.; Guadarrama, C., Sánchez, G., Ramos, Z. (2008). *Micorriza Arbuscular: Colonización intraradical y extracción de esporas del suelo*. Tlaxcala. México.

- Hernández, D. (2003). *Micorrización temprana de portainjertos de frutales como alternativa biotecnológica para el control de nemátodos*. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona. 187 pp. 100
- Herrera, R.; Ferrer, R. (1984). *Glosario de términos en español relativos al estudio de las micorrizas vesículo-arbusculares*. Acta Botánica Cubana.
- Hol, S.; Cook R. (2005) *Una visión general de mycorrhizal - arbusculares hongos - interacciones de nematodos*. Appl básica Ecol 6: 489 – 503 Hooper DJ, Hallman
- Jasper, A.; Davy, J. (1993). *Root characteristics of native plant species in relation to the benefit of mycorrhizal colonization for phosphorus uptake*. Plant Soil 155/156: 281-284.
- Jiménez, J. (1989). *Las micorrizas*. Asociación Nacional de Caficultores (ANACAFE) 305. Guatemala, C.A. 25 – 28 p.
- Jeffries, J.; Gianinazzi, S.; Perotto, K.; Barea, J. (2003). *The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in the sustainable maintenance of plant health and soil fertility*. Biol. Fertil. Soil. 37:1-16.
- Johansson, F.; Paul D., (2004). *Microbial interaction in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture*. FEMS Microb. Ecol. 48:1-13.
- Karssen, G.; Moens, M. (2006). *Root-knot nematodes*. In Perry, RN; Moens, M. eds. *Plant Nematology*. London, UK. CAB International. p. 59-88.
- Klironomos J.; Mccune,G.; Neville, P. (2000) *The influence of arbuscular mycorrhizae on the relationship between plant diversity and productivity*. Ecology Letters 3: 137-141.
- Koch, M.; Tanami, Z.; Bodani, H.; Wininger, S. and Kapulnik, Y. (1997). *Field application of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi improved garlic yield in disinfected soil*. Mycorrhiza, 7, 47-50 p.

- Lugo, A.; Cabello, N. (2002). *Native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from mountain grassland (Córdoba, Argentina) I. Seasonal variation of fungal spore diversity*. *Mycologia*. 94: 579-586
- Lastres, J. (2007). *Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades. M.I.P.E de Cucurbitaceas*. Pág. 30 – 40; 1º Edición; Costa Rica.
- Leiva, J. (2008). *Evaluación del hongo nematófago pochonia chlamydosporia, en el control del nemátodo del nudo meloidogyne sp, en el cultivo de sachá inchi Plukenetia volubilis bajo condiciones de vivero*. Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto-Perú.
- León, V. (2006). *Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a yuca (Manihot esculenta sp) en dos regiones de la Amazonía Colombiana*. Bogotá – Colombia.
- Li H.; Yang D.; Shu., C (2006) *La colonización por el hongo micorriza arbusculares versiforme glomus induce una respuesta de defensa contra el nematodo de nudo de la raíz Meloidogyne incognita en vid ( Vitis amurensis Rupr.), Que incluye la activación transcripcional de la VCH3 gen de quitinasa de clase III*. *Physiol Plant Cell* 47: 154 - 163
- Lucas, L. (2011). *Fertilización fosfatada en Chile Guajillo (Capsicum annuum L.) y su Interacción con Hongos Micorrízicos Arbusculares*. 155 pp.
- Manco, E. (2006) *Subdirección de recursos geneticos y biotecnología Estación Experimental Agraria “el porvenir” – Tarapoto*.
- Marro, N. (2014). *Use of the Arbuscular Mycorrhizal Fungus Glomus intraradices as Biological Control Agent of the Nematode Nacobbus aberrans Parasitizing Tomato*. Vol 57, pp 668-674. Brazil.
- Márquez, K.; Cayotopa, T.; Arévalo, G.E.; Vivanco, N.U.; Arévalo, Q.J. (2007). *Diagnóstico y niveles de inóculo del nemátodo que afecta a la raíz de sachá inchi (Plukenetia volubilis L.) en el Perú*. *Fitopatología* 42 (2): 52.

- Meier, R.; Toth, R.; Weber, H. (1988). *Dynamics of arbuscule development and degeneration in mycorrhizas of Triticum aestivum L. and Avena sativa L. with reference to Zea mays L.* New Phytologist 110: 363–370.
- Miyasaka, S.; Habte, M. (2003). *Plant mechanisms and mycorrhizal symbiosis to increase phosphorus uptake efficiency.* Journal Series Nro. 4468, College of tropical Agriculture and Human resources, Hawaii, Honolulu,; pp. 1101 – 1133.
- Moens, M., Perry R.; Starr J. (2009) *Meloidogyne especies - un diverso grupo de nuevos e importantes parásitos de plantas.* En: Perry RN, Moens M, Starr JL (eds) nematodos de los nudos de raíz. CAB International, Wallingford, pp 1 – 17.
- Molina, L.; Mahecha, L.; Medina, M. (2005). *Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas Silvopastoriles.*
- Morton, J.; Benny, G. (1990). *Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae,* Mycotaxon, vol. 37, pp. 471–491.
- Morton, J.; Redecker, D. (2001) *Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera Archaeospora and Paraglomus, based on concordant molecular and morphological characters,* Mycologia, vol. 93, pp. 181–195.
- Newman, E. (1966) *A method of estimating the total length of root in a sample.* Journal of applied Ecology, 3, 139.
- Oldroyd, G. (2013). *Sistemas que promueven asociaciones simbióticas beneficiosas en plantas de señalización.* Nature Reviews Microbiología 11: 252 - 263.
- Oliveira, N.; Olivera, L. 2005. *Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in plantas of Theobroma grandiflorum schum and Pullinia cupana Mart. of an agroforestry system in Central Amazonia, Amazonas State, Brazil.* Brazilian J. Microb. 36: 262-270.

- Ordoñez, C. (2009). *Interacción sinérgica entre hongos formadores de micorrizas arbusculares - Pseudomonas fluorescens y su relación en la nutrición vegetal de fósforo*. Tesis de Maestría en Microbiología. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias. Bogotá.
- Ortas, I. (1996). *The influence of use of different rates of mycorrhizal inoculum on root infection, plant growth and phosphorus uptake*. Communication. Soil Science. Plant Annals. 27 (18-20), 2935-2946.
- Paillacho, F. (2010). *Evaluación de la efectividad de las Micorrizas Arbusculares Nativas sobre el desarrollo y estado nutritivo del Palmito (Bactris Gasipaes HBK) en etapa de vivero*. Escuela Politécnica del Ejército. Santo Domingo de los Tsáchilas – Ecuador. 108 pp.
- Parniske, M. (2008). *Arbuscular mycorrhiza: The mother of plant root endosymbioses*. Nature Review Microbiology. 6: 763-775.
- Peña, C.; Cardona, G.; Mazorra, A.; Arguellez, J., Arcos, A. (2006). *Micorrizas Arbusculares de la Amazonía Colombiana*. Catálogo ilustrado. Instituto Amazónico de Investigaciones científicas SINCHI.
- Phillips, J.; Hayman, D. (1970) *Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment to infection*. Trans. Brit. Mycol. Soc. 55: 158-161
- Ploeg, A.; Maris, C. (1999) *Efecto de la temperatura sobre la duración del ciclo de vida de una Meloidogyne incognita población*. Nematología 1: 389 - 393
- Rivera, R.; Fernández, J.; Hernández, T. (2003). *El manejo eficiente de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible*. Estudio de caso: El Caribe. INCA.
- Robles, M. (2006). *Análisis prospectivo del potencial micorrizico y la respuesta a la inoculación con hongos de micorriza arbuscular del Maguey Mezcalero (Agave angustifolia Haw)*. Tesis de Maestría. Oaxaca de Juárez. Mexico.



- Rojas, M., Salazar, L. (2013). *Densidad crítica de Meloidogyne exigua en plantas de almácigo de café variedad caturra*. 10 pp
- Rojas, L. (2010). *Respuesta del cultivo de pimentón (Capsicum annuum) a la inoculación con Glomus manihotis y Acaulospora lacunosa*. Maracaibo – Zulia.
- Sanders, R. (2003) *Preference, specificity and cheating in the arbuscular mycorrhizal symbiosis*. Plant Sci. 8:143-145.
- Sánchez, J. (2010). *Efecto de quitina y quitosano sobre huevos y juveniles de nematodos formadores de nódulos radiculares, Nacobbus aberrans y Meloidogyne incognita, bajo condiciones in vitro e in vivo*. 130 pp.
- Schenck, N.; Perez, Y. (1990). *Manual for identification of MVA mycorrhizal fungi*. 3<sup>a</sup> Edition. Florida: Sinergistic publication.
- Schouted, N. (2015). *Arbuscular Mycorrhizal Fungi for the Biocontrol of Plant-Parasitic Nematodes: A Review of the Mechanisms Involved*, Australia.
- Sempere, F.; Santamarina, P. (2001). *La Aplicación de las Micorrizas*. Revista Agrícola Vergel; N° 232 de abril, pp. 198-201.
- Shapiama, S. (2008), *Diagnóstico poblacional de nemátodos fitoparásitos en el cultivo de sacha inchi (Plukenetia volubilis L.) en la Región San Martín*. Universidad Nacional de San Martín -T.
- Shreenivasa, K.; Krishnappa, K; Ravichandra, G. (2007) *La supervivencia penetración de Meloidogyne incognita larvas en las raíces de tomate en presencia de hongos micorrícicos arbusculares, Glomus fasciculatum*. Karnataka J Agric Sci 20: 166 - 167
- Sikora, R.; Pocasangre, L.; Felde, A.; Niere, E. (1963) *Pacispora, a new vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal genus in the Glomeromycetes*, Journal of Applied Botany, vol. 78, pp. 72–82.

- Sieverding, E. (1991). *Vesicular Arbuscular Mycorrhizal in Tropical Agrosystems*. Federal Republic of Germany: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ). 371 p
- Sieverding, E.; Barea, J. (1991). *Perspectivas de la inoculación de sistema de producción vegetal con hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares, en Fijación y movilización de nutrientes. Fijación de N y micorrizas*, pp. 221-245. 105
- Siqueira J.; Saggin, O.; Colozzi, A.; Oliveira, E. (1995). *Influencia do substrato de formacao e da micorriza no crescimento de mudas de cafeeiro transplantadas*. Pesquisas Agropecuarias do Brasil. 1417-1425.
- Smith, S.; Read, D. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*, Elsevier Edition. Third Edition. 10-90.
- Smith, S.; Smith, A.; Jakobsen, I. (2003). Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant Physiol.*
- Smith, S.; Read, J. (1997) *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, San Diego, CA.
- Sylvia, D.; Williams, S. (1992). *Vesicular arbuscular mycorrhizae and environmental stress*. Pp.101.124. In: Bethlenfalvay GJ and RG Linderman (Eds.). *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. ASA-Special Publication No. 54.
- Talavera, M. (2003). *Manual de Nematología Agrícola – Introducción al Análisis y al Control Nematológico para Agricultores y Técnicas de Agrupaciones de Defensa Vegetal*. Institut de Recerca i Formació agrària i pesquera. Conselleria d'Agricultura i Pesca de les illes Balears. Pág. 1 – 9. Brasil 2003.
- Taylor, A.; Sasser, J. (1983). *Biología, identificación y control de los nemátodos de nódulo de la raíz (especies de Meloidogyne)*. Departamento de Fitopatología de la Universidad del Estado de Carolina del Norte y la Agencia de Estados Unidos para el Desarrollo Internacional. 108 p.

- Teixeira, E. (2010) *Interactions between an Arbuscular Mycorrhizal Fungus (Scutellospora heterogama) and the Root-knot Nematode (Meloidogyne incognita) on Sweet Passion Fruit (Passiflora alata)*.
- Tena, S. (2002). *Presencia de HMA en plantas silvestres de suelos salinos en el estado de Colima*. Tesis de Maestría en Biotecnología. Tecomán – México.
- Tennant, D. (1975) *A test of a modified line intersect method of estimating root length*. Journal of Ecology to: 995-1001.
- Torres, L. (2003) *Principales Nemátodos Fitoparásitarios*. Pág. 1 – 3; Editor SENASA. 1º Edición; Lima - Perú 2003.
- Trejo, D. (1997). *Ecología y comportamiento de la micorriza arbuscular en el cultivo de café (Coffea arabica L.)*. Tesis de maestría en ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 131 p.
- Trejo, D.; Ferrera, R.; García R.; Varela L.; Lara L. y Alarcón A. (2011). *Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo*. Chile. Revista Chilena de Historia Natural 84: 23-31 p.
- Trouvelot, A.; Kough, J.; Gianinazzi, V. (1986): *Evaluation of VA infection levels in root systems. Research for estimation methods having a functional significance*. In : V. Gianinazzi-Pearson and S. Gianinazzi (eds.), *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*. INRA Press, Paris, France, pp. 217–221.
- Trudgill D.; Blok V. (2001) *Apomícticos, polífago agallador nematodes: patógenos de las raíces biotróficos excepcionalmente exitosos y perjudiciales*. Annu Rev Phytopathol 39:53 – 77.
- Valles, C. (1 995). *Sacha Inchi, Importante Oleaginosa Selvática*. Pura Selva, p. 40-41.
- Van Der Heijden, M.; Klironomos, M.; Ursic, P.; Moutoglis, R.; Streitwolf, T.; Boller, A. (1998) *Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity*. Nature 396: 69-72.

Volcy, C. (1998). *Diversidad y Parasitismo en plantas*. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín.16-18p.

Wright, D.; Scholes, J.; Read, D. (1998). *Effects of VA mycorrhizal colonization on photosynthesis and biomass production of Trifolium repens L. Plant, Cell and Environment*.